



HAL
open science

Évaluation des effets du flutamide, molécule antiandrogénique, sur l'appareil reproducteur mâle chez le Rat - Approches protéomique et transcriptomique

Claire Friry-Santini

► **To cite this version:**

Claire Friry-Santini. Évaluation des effets du flutamide, molécule antiandrogénique, sur l'appareil reproducteur mâle chez le Rat - Approches protéomique et transcriptomique. Biochimie [q-bio.BM]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2007. Français. NNT: . tel-00200458

HAL Id: tel-00200458

<https://theses.hal.science/tel-00200458>

Submitted on 20 Dec 2007

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

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

THESE

présentée

devant l'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

pour l'obtention

du DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

présentée et soutenue publiquement par

Claire FRIRY-SANTINI

Le 13 Juillet 2007

Évaluation des effets du flutamide, molécule antiandrogénique, sur l'appareil reproducteur mâle chez le Rat Approches protéomique et transcriptomique

Membres du Jury:

Pr. Jean ANDRE
Pr. Patrick FENICHEL
Dr. Hervé COFFIGNY
Dr. Serge CARREAU
Dr. Rémi BARS
Dr. Michel SAMSON
Dr. Mohamed BENAHMED

Président
Rapporteur
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directeur de thèse

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON I

Président de l'Université	M. le Professeur L. COLLET
Vice-Président du Conseil Scientifique	M. le Professeur J.F. MORNEX
Vice-Président du Conseil d'Administration	M. le Professeur J. LIETO
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. le Professeur D. SIMON
Secrétaire Général	M. G. GAY

SECTEUR SANTE

Composantes

UFR de Médecine Lyon R.T.H. Laënnec	Directeur : M. le Professeur D. VITAL-DURAND
UFR de Médecine Lyon Grange-Blanche	Directeur : M. le Professeur X. MARTIN
UFR de Médecine Lyon-Nord	Directeur : M. le Professeur F. MAUGUIERE
UFR de Médecine Lyon-Sud	Directeur : M. le Professeur F.N. GILLY
UFR d'Odontologie	Directeur : M. O. ROBIN
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : M. le Professeur F. LOCHER
Institut Techniques de Réadaptation	Directeur : M. le Professeur MATILLON
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : M. le Professeur P. FARGE

SECTEUR SCIENCES

Composantes

UFR de Physique	Directeur : M. le Professeur A. HOAREAU
UFR de Biologie	Directeur : M. le Professeur H. PINON
UFR de Mécanique	Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID
UFR de Génie Electrique et des Procédés	Directeur : M. le Professeur A. BRIGUET
UFR Sciences de la Terre	Directeur : M. le Professeur P. HANTZPERGUE
UFR de Mathématiques	Directeur : M. le Professeur M. CHAMARIE
UFR d'Informatique	Directeur : M. le Professeur M. EGEA
UFR de Chimie Biochimie	Directeur : Mme. le Professeur H. PARROT
UFR STAPS	Directeur : M. le Professeur R. MASSARELLI
Observatoire de Lyon	Directeur : M. le Professeur R. BACON
Institut des Sciences et des Techniques de l'Ingénieur de Lyon	Directeur : M. le Professeur J. LIETO
IUT A	Directeur : M. le Professeur M. C. COULET
IUT B	Directeur : M. le Professeur R. LAMARTINE
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : M. le Professeur J.C. AUGROS

*A mes parents,
qui ont cru en moi et qui m'ont encouragée et offert l'opportunité de parvenir au bout
de ce long chemin universitaire*

*A toute ma famille et tous mes amis,
un grand merci pour vos encouragements et votre soutien*

*A Ghis
Je te remercie très sincèrement pour toute l'attention et la patience que
tu as eues envers moi au cours de ces années.
Merci pour tes encouragements et ton soutien de chaque instant
Je t'Aime.*

Je tiens tout d'abord à adresser mes sincères remerciements à Remi Bars pour m'avoir accueillie au sein de Bayer CropScience pour ce qui devait être à l'origine un simple stage de DESS de quelques mois, ainsi que pour la confiance qu'il m'a témoignée en me proposant d'effectuer cette thèse. Merci de m'avoir permis de mener à bien ces travaux dans les meilleures conditions et de m'avoir offert l'opportunité de participer à de nombreux congrès internationaux en Allemagne, Finlande, Etat Unis et Croatie. Ces 5 années passées à Bayer CropScience furent très enrichissantes tant d'un point de vue scientifique qu'humainement, et je lui serai toujours reconnaissante de m'avoir ouvert les portes du monde industriel.

Je remercie vivement le Dr. Mohamed Benahmed d'avoir accepté d'être mon directeur de thèse, pour ses conseils avisés et son implication dans le suivi de ce projet de recherche, malgré la distance.

Je suis bien évidemment très reconnaissante envers mes rapporteurs, le Professeur Patrick Fenichel, le Docteur Hervé Coffigny et le Docteur Serge Carreau, qui ont pris sur leur temps pour étudier mon travail, et m'ont permis d'améliorer la qualité de ce mémoire.

Je remercie le Professeur Jean André pour avoir accepté de présider cette thèse ainsi que l'ensemble des membres du jury qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail.

J'aimerais dédier ce mémoire à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce travail.

Merci à tous, avec une mention toute particulière pour David et son enthousiasme de tout instant, qui m'a guidé avec beaucoup d'attention tout au long de ces 3 dernières années. Merci pour ses précieux conseils, ses encouragements, sa patience et son aide, ainsi que pour la relecture et correction de ce mémoire.

Je voudrais remercier infiniment Michel Samson qui m'a initiée au monde de la Protéomique et de l'Electrophorèse Bidimensionnelle. Un Enorme Merci pour sa très grande disponibilité, son soutien et son aide précieuse, sans qui cette thèse n'aurait pas été ce qu'elle est.

Merci à l'ensemble de l'équipe Recherche, à Muriel pour ses conseils judicieux et son soutien moral, à Helen « my favorite english teacher », à Olivier pour ses encouragements, à Hatice pour sa gentillesse et à Marie France pour son sourire et sa bonne humeur.

Un grand merci à l'équipe Technique, et plus particulièrement à Mapie, Sophie et Aline avec qui j'ai partagé de très bons moments à la paillasse. Mille mercis pour votre précieuse aide et votre forte implication à l'avancement de mes recherches.

Je remercie aussi l'ensemble de l'équipe de Spectrométrie de masse de l'IFR50 pour leur collaboration efficace qui a grandement contribué au bon déroulement de ces travaux.

Je tiens également à remercier Philippe, mon maître de stage de DESS qui est devenu au cours de ces années un ami. Merci pour sa disponibilité, ses nombreux conseils et son aide concernant mes questions de novice en Toxicologie.

Un grand merci à l'ensemble des « DE » et « Patho », travailler à vos côtés et profiter de votre expérience a été pour moi un réel plaisir.

Merci à Béné, Agnès et Angéline, toujours de bonne humeur très communicative.

Merci à ma voisine de bureau, Catherine, qui a su me remonter le moral dans les moments de doutes.

Un grand merci à Pascaline pour ses conseils et son aide, ainsi qu'à Fabrice pour avoir toujours répondu présent à mes multiples sollicitations.

J'ai également une pensée toute particulière pour Célinette et AnnA qui m'ont toujours soutenue et encouragée. Merci les filles pour tous les bons moments d'amitié et les éclats de rire lors de nos discussions quotidiennes qui me manquent déjà...

Un Immense Merci du fond du cœur à toute la petite famille de Bayer qui a égayé mon quotidien au cours de ces cinq années passées à vos côtés, merci pour votre sympathie et vos encouragements, et à toutes les personnes qui se sentent oubliées dans ces remerciements.

❧ Table des Matières ❧

∞ Table des Matières ∞

	<i>page</i>
Table des matières	1
Table des illustrations	5
Abréviations	9
INTRODUCTION	11
ETAT DES CONNAISSANCES	14
CHAPITRE I - Le système endocrinien	14
1. Le système endocrinien : Définition	14
2. Les principales glandes endocrines	15
3. Les différentes classes d'hormones	19
4. Mécanismes cellulaires d'action des hormones	20
5. Régulation du système endocrinien	20
CHAPITRE II - L'appareil reproducteur mâle	22
1. Morphologie et histologie du testicule	22
2. Physiologie et fonctions du testicule	23
2.1 Le compartiment interstitiel et fonction endocrine	23
2.1.1 L'interstitium	23
2.1.2 Stéroïdogénèse : Biosynthèse des androgènes	24
2.1.3 Métabolisme des androgènes	25
2.1.4 Rôle de la testostérone et de ses dérivés	26
2.1.5 Mécanisme d'action des androgènes	27
2.1.5.1 Le récepteur aux androgènes	28
2.1.5.2 Mécanisme d'action	29
2.1.6 Catabolisme et élimination des androgènes	31
2.2 Le compartiment tubulaire et fonction exocrine	31
2.2.1 La spermatogénèse	31
2.2.2 Les cellules de Sertoli	33
2.2.3 Les jonctions intercellulaires spécialisées	36

CHAPITRE III - Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires	38
1. Régulation des fonctions gonadiques	38
1.1 Action des gonadotrophines	38
1.2 Rétrocontrôle des gonadotrophines	39
1.2.1 Par les hormones gonadiques	39
1.2.2 Par les facteurs non stéroïdiens	39
2. Régulation de la stéroïdogénèse	40
2.1 Par les hormones	40
2.2 Par les facteurs non stéroïdiens	41
3. Régulation de la spermatogénèse	42
3.1 Par les hormones	42
3.2 Par les facteurs non stéroïdiens	43
CHAPITRE IV - Les perturbateurs endocriniens	45
1. Les perturbateurs endocriniens : Définition	45
2. Les sources d'expositions	46
3. Effets des perturbateurs endocriniens	47
3.1 Généralités	47
3.2 Effets des perturbateurs endocriniens sur la vie sauvage	49
3.3 Effets potentiels des perturbateurs endocriniens sur la santé humaine	50
4. Quelques exemples de perturbateurs endocriniens	52
5. Modèle de perturbateur endocrinien antiandrogénique: Le flutamide ...	58
6. Etudes de toxicologie	61
6.1 Etudes conventionnelles	61
6.2 Les nouveaux outils « -omiques »	63
6.1.1 La Toxicotranscriptomique	64
6.1.2 La Toxicoprotéomique	67
RESULTATS	69
1. Etude sub-aiguë de 28 jours	72
1.1 Publication 1	72
1.2 Résultats protéomiques	73
1.3 Résultats transcriptomiques	80

2. Etude aigüe	99
2.1 Résultats de toxicologie	99
2.2 Résultats protéomiques	102
2.3 Résultats transcriptomiques	109
3. Résultats supplémentaires	126
3.1 Publication 2	126
3.2 Protéome Testiculaire.....	127
DISCUSSION & PERSPECTIVES	129
AUTRE PUBLICATION	141
MATERIELS ET METHODES	142
1. Analyse Protéomique	142
1.1 Préparation des extraits protéiques totaux	142
1.2 Dosage protéique	143
1.3 Electrophorèse bidimensionnelle	143
1.3.1 Isoélectrofocalisation	143
1.3.2 Equilibration en SDS	145
1.3.3 Séparation des protéines en gel SDS-PAGE	146
1.4 Coloration des gels	146
1.5 Analyse des gels 2-DE	147
1.5.1 Acquisition de l'image	147
1.5.2 Analyse quantitative avec le logiciel PDQuest	147
1.5.2.1 Détection automatique des spots	148
1.5.2.2 Appariement des spots	148
1.5.2.3 Normalisation	149
1.5.2.4 Analyses statistiques des données	149
1.6 Prélèvements et traitements des spots d'intérêts	150
1.7 Analyse des protéines par spectrométrie de masse	150
1.7.1 Technique MALDI-ToF/MS	151
1.7.2 Technique micro ESI-MS/MS	152
1.7.3 Identification des protéines	152

2. Analyse Transcriptomique	153
2.1 Préparation des extraits d'ARN totaux	153
2.2 Hybridation sur puce 44 K (Génome total, rat)	153
2.3 PCR quantitative	154
3. Analyse Fonctionnelle	156
3.1 Gene Ontology	156
3.2 Ingenuity Pathway Analysis	156
Références Bibliographiques	158

ANNEXES

1. Table a : Protéines statistiquement modulées à 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement	1
2. Table b : Transcrits modulés à 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement	4
3. Table c : Protéines statistiquement modulées 24 h et 48 h après une administration unique de 150 mg/kg de FM	47
4. Table d : Transcrits modulés 8 h, 24 h et 48 h après une administration unique de 150 mg/kg de FM	48
5. Table e : Liste des protéines testiculaires identifiées par MALDI-ToF/MS et/ou ESI-MS/MS	71

⌘ **Table des Illustrations** ⌘

∞ Table des Illustrations ∞

	<i>page</i>
<i>Etat des connaissances</i>	
Figure 1 : Différents modes de sécrétion des hormones	15
Figure 2 : Principales glandes endocrines	16
Figure 3 : Mécanismes cellulaires d' action des hormones.....	19
Figure 4 : Exemple de mécanisme de rétrocontrôle	21
Figure 5 : Structure interne de l' appareil génital mâle.....	22
Figure 6 : Structure interne du testicule (coupe longitudinale)	22
Figure 7 : Structure interne du testicule	23
Figure 8 : Biosynthèse de la testostérone au niveau des cellules de Leydig	24
Figure 9 : Récepteur aux androgènes	28
Figure 10 : Mécanisme d' action du récepteur aux androgènes.....	29
Figure 11 : Mécanisme d' action alternatif du récepteur aux androgènes	31
Figure 12 : Diagramme schématique des phases de la spermatogenèse	32
Figure 13 : Les cycles spermatogéniques	33
Figure 14 : Schéma d' une cellule de Sertoli.....	34
Figure 15 : Représentation des différentes jonctions spécialisées de l' épithélium séminifère...	37
Figure 16 : Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires	44
Figure 17 : Modes d' action des hormones stéroïdes et sites potentiels d' action des PE.....	48
Figure 18 : Evolution de la qualité du sperme et incidence du cancer du testicule, de l' hypospadias et de la cryptorchidie dans les pays nordiques, européens et d' Amérique du Nord.....	50
Figure 19 : Structure chimique du flutamide et de son métabolite actif, le 2-Hydroxyflutamide.	58
Figure 20 : Mode d' action du flutamide.....	59
Table I : Les différentes hormones et leurs fonctions principales	18
<i>Résultats</i>	
Figure 21 : Profils protéiques bidimensionnels représentatifs de testicules de rats contrôles et traités à 6, 30, 150 mg/kg de FM par jour pendant 28 jours	73
Figure 22 : Représentation du nombre total de protéines modulées par 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement, ainsi que du nombre de protéines sur- et sous- accumulées à chaque niveau de dose	74

Figure 23 : Diagramme de Venn représentant le nombre de protéines spécifiquement modulées par 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement, ainsi que le nombre de protéines modulées par plusieurs niveaux de doses	75
Figure 24 : Voies métaboliques affectées par 6, 30, 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement	78
Figure 25 : Analyse par PCR quantitative du profil d'expression de 23 gènes dans les échantillons individuels et poolés	81
Figure 26 : Diagramme de dispersion (scatters-plots) des résultats de puce aux doses de 6, 30 et 150 mg/kg/j de FM	82
Figure 27 : Comparaison du profil d'expression de 22 gènes issus d'analyses par PCR quantitative et par puces oligonucléotidiques	83
Figure 28 : Représentation du nombre total de transcrits modulés par 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement, ainsi que du nombre de transcrits sur- et sous- accumulés à chaque niveau de dose	85
Figure 29 : Diagramme de Venn représentant le nombre de transcrits spécifiquement modulés par 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement, ainsi que le nombre de transcrits modulés par plusieurs niveaux de doses	85
Figure 30 : Profil d'accumulation des transcrits modulés par plusieurs niveaux de doses de FM	86
Figure 31 : Réseaux de gènes affectés suite au traitement FM aux doses 6, 30 et 150 mg/kg/j	88
Figure 32 : Transcrits impliqués dans le métabolisme des lipides, dont le niveau d'accumulation est modulé par le FM après 28 jours de traitement	91
Figure 33 : Représentation de la voie de biosynthèse de la testostérone	92
Figure 34 : Transcrits impliqués dans la prolifération cellulaire et le cancer, dont le niveau d'accumulation est modulé par le FM après 28 jours de traitement	95
Figure 35 : Dosage du niveau de FM et d'hydroxyflutamide plasmatique (A) et testiculaire (B), 1 h, 2 h, 8 h, 24 h et 48 h après une seule administration de FM	100
Figure 36 : Dosage du niveau de testostérone plasmatique à 8 h, 24 h et 48 h, après une seule administration de FM	101
Figure 37 : Analyse histologique du testicule de rat contrôle et traité au FM, 48 h après une seule administration de FM	102
Figure 38 : Profils protéiques bidimensionnels représentatifs de testicules de rats contrôles et traités, 24 h et 48 h après l'administration unique de 150 mg/kg de FM	103
Figure 39 : Représentation du nombre total de protéines modulées à 24 h et 48 h, après une seule administration de 150 mg/kg de FM, ainsi que du nombre de protéines sur- et sous- accumulées à chaque temps	104

Figure 40 : Voies métaboliques affectées par 150 mg/kg de FM, 24 h et 48 h après l'administration unique de FM.....	106
Figure 41 : Diagramme de dispersion (scatters-plots) des résultats de puce aux temps 8 h, 24 h et 48 h après une administration unique de 150 mg/kg de FM	110
Figure 42 : Représentation du nombre total de transcrits modulés à 8 h, 24 h et 48 h après une seule administration de FM à 150 mg/kg, ainsi que du nombre de transcrits sur- et sous- accumulés à chaque temps	111
Figure 43 : Diagramme de Venn représentant le nombre de transcrits spécifiquement modulés, 8 h, 24 h et 48 h, après une seule administration de FM à 150 mg/kg, ainsi que le nombre de transcrits modulés à plusieurs temps de sacrifice	111
Figure 44 : Réseaux de gènes affectés après une seule administration de FM à 150 mg/kg ..	113
Figure 45 : Transcrits impliqués dans le métabolisme des lipides, dont le niveau d'accumulation est modulé après une administration unique de FM à 150 mg/kg.	115
Figure 46 : Transcrits impliqués dans la réponse immunitaire et inflammatoire, dont le niveau d'accumulation est modulé après une administration unique de FM à 150 mg/kg .	117
Figure 47 : Effets du FM sur la prolifération des cellules de Leydig	120
Figure 48 : Transcrits impliqués dans la croissance et la prolifération cellulaire, dont le niveau d'accumulation est modulé après une administration unique de FM à 150 mg/kg	121
Figure 49 : Schéma illustrant l'architecture moléculaire des 3 complexes protéiques retrouvés au niveau des jonctions serrées au niveau des cellules de Sertoli	123
Figure 50 : Schéma illustrant l'architecture moléculaire des 4 complexes protéiques retrouvés au niveau des jonctions adhérentes entre les cellules de Sertoli et germinales	124
Figure 51 : Carte 2-DE de référence des protéines testiculaires de rat	128
Table II : Protéines statistiquement modulées à 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement, et identifiées par spectrométrie de masse	76
Table III : Protéines statistiquement modulées 24 h et 48 h après une administration unique de 150 mg/kg de FM, et identifiées par spectrométrie de masse	105

Matériels et Méthodes

Figure 52 : Première dimension : Isoélectrofocalisation (IEF)	144
Figure 53 : Schéma représentant les principales étapes de la technique d'électrophorèse bidimensionnelle (2-DE)	147
Figure 54 : Acquisition d'image par le logiciel PDQuest.....	148
Figure 55 : Détection des spots protéiques par le logiciel PDQuest	148

Figure 56 : Analyse par spectrométrie de masse (MALDI-TOF/MS)	151
Figure 57 : Schéma de principe de la technique d'ionisation par électrospray (ESI)	152
Figure 58 : Les différentes étapes de l'approche protéomique.....	153
Figure 59 : Principe de l'analyse transcriptomique.....	154
Figure 60 : Légendes des symboles utilisés par le programme IPA.....	157

⌘ Liste des Abréviations ⌘

∞ Abréviations ∞

ABP	Androgen Binding Protein
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
AhR	Récepteur Aryl hydrocarbure
AR	Récepteurs aux Androgènes
ARE	Elément de Réponse aux Androgènes
ARN	Acide RiboNucléique
ARNc	Acide RiboNucléique complémentaire
ARNm	Acide RiboNucléique messenger
CRE	Elément de Réponse à l'AMPc
Cyp11a1	Cytochrome P450sc
Cyp17a1	Cytochrome P450c17
DBD	Domaine de liaison à l'ADN
DBP	Di(n-butyl) phthalate
DDE	Dichlorodiphenyldichloroéthylène
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroéthane
DEHP	Di(2-éthylhexyl)phthalate
DES	Diéthylstilbestrol
DHEA	Déhydroépiandostérone
DHT	Dihydrotestostérone
ER	Récepteurs aux œstrogènes
ES	Spécialisation Ectoplasmique
EDSTAC	Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee
ESI	ElectroSpray Ionization
EST	Expressed Sequence Tags
FM	Flutamide
FSH	Hormone FolliculoStimulante
GH	Hormone de croissance
GnRH	Gonadotropine Releasing Hormone
GO	Gene Ontology
GST	Glutathione-S-Transferase
hCG	hormone Gonadotrophine Chorionique
HESI	Health and Environmental Sciences Institute
HRE	Elément de Réponse aux Hormones
Hsd3b1	3β-hydroxystéroïde déshydrogénase

Hsd17b3	17 β -hydroxystéroïde déshydrogénase
HSP	Heat Shock Protein
IEF	IsoElectroFocalisation
IGF-1	Insulin-like Growth Factor-1
ILSI	International Life Science Institute
IPA	Ingenuity Pathway Analysis
kDa	kilo Dalton
LBD	Domaine de liaison au ligand
LH	Hormone Lutéinisante
MALDI-ToF	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation-Time of Flight
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
<i>Mr</i>	Masse moléculaire
MS	Spectrométrie de Masse
NCT	National Center for Toxicogenomics
NIEHS	National Institute of Environmental Health Sciences
NTD	Domaine N-terminale
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Économiques
P450arom	P450 aromatase
pI	point Isoélectrique
PK	Protein Kinase
PCR	Polymerase Chain Reaction
SDS-PAGE	Sodium Dodecil Sulfate-PolyAcrylamide Gel Electrophoresis
SE	Système Endocrinien
SHBG	Sex Hormone Binding Globulin
SNE	Système Neuro-Endocrinien
StAR	Steroidogenic Acute Regulatory protein
T3	Tri-iodothyronine
T4	Thyroxine
TCDD	2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine
TDS	Syndrome de Dysgénésie Testiculaire
US-EPA	United States Environmental Protection Agency
2-DE	Electrophorèse bidimensionnelle

∞ INTRODUCTION ∞

∞ INTRODUCTION ∞

Au cours de ces dernières décennies, la communauté scientifique s'est intéressée à l'altération croissante de la fonction de reproduction mâle observée chez de nombreuses espèces mammifères ou non (Toppari *et al.* 1996; Vos *et al.* 2000). Malgré de nombreuses controverses, il est reconnu que des agents exogènes présents dans l'environnement, appelés perturbateurs endocriniens (PE), sont capables d'affecter les fonctions essentielles de reproduction, de développement et de croissance, aussi bien chez l'Homme que chez la faune sauvage (WHO. 2002).

L'action des PE sur les organismes vivants a initialement été mise en évidence chez des animaux sauvages, par des études sur la faune terrestre et aquatique. Chez l'Homme, une augmentation constante de l'incidence des cancers testiculaires, des malformations congénitales de l'appareil reproducteur mâle, cryptorchidies et hypospadias, ainsi qu'une diminution de la qualité spermatique et une augmentation des infertilités masculines sont constatées depuis plusieurs années (Adami *et al.* 1994; Swan *et al.* 2000; Bay *et al.* 2006). Sharpe et Skakkebaek ont été parmi les premiers à suggérer que ces altérations, observées chez l'Homme au niveau de l'appareil reproducteur mâle, pouvaient être liées à une perturbation du système endocrinien, par analogie avec les observations faites chez les fils de femmes enceintes exposées au diéthylstilbestrol (DES) (Sharpe and Skakkebaek 1993). Une attention accrue s'est ensuite portée sur les effets potentiels de substances susceptibles d'interférer avec les œstrogènes et les androgènes au niveau du développement et des fonctions de l'appareil reproducteur mâle (Gray and Kelce 1996; Kelce *et al.* 1998).

Les PE sont définis comme étant des substances naturelles ou synthétiques, capables d'interférer avec le système endocrinien (WHO. 2002). Ces agents exogènes rentrent dans la composition de nombreux produits auxquels l'Homme et la faune sauvage sont quotidiennement exposés. Parmi ces molécules, on dénombre des substances ayant une origine industrielle (agents anti-rouille, plastifiants,...), agricole (pesticides), ainsi que des produits de consommation courante (cosmétiques, produits d'entretien, ...), des hormones de synthèses (contraceptifs oraux, les traitements substitutifs hormonaux, médicaments...) et naturelles retrouvées dans l'alimentation (phyto-œstrogènes).

Les effets potentiellement néfastes des PE posent actuellement un véritable problème de santé publique et sont devenus une des préoccupations majeures du monde scientifique, attirant l'attention des gouvernements, des organismes de réglementation internationaux ainsi que des médias. Même si les effets délétères des PE sur la santé humaine ne sont que soupçonnés, des programmes de recherche et des groupes de travail

ont été mis en place afin d'évaluer l'étendue des problèmes relatifs aux PE, et en vue de développer des stratégies de prévention et d'intervention.

En 1996, l'US-EPA (United States Environmental Protection Agency) ainsi que l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Économiques) ont établi des programmes ayant comme objectifs d'accroître l'échange d'informations et la coordination des activités de recherche relatifs aux PE ; de développer des tests de criblage robustes, reproductibles et pertinents, capables de détecter les composés ayant une activité oestrogénique, antioestrogénique, androgénique ou antiandrogénique ; d'élaborer et de réviser les lignes directrices pour ces essais visant à détecter les PE ; ainsi que d'harmoniser les méthodes de caractérisation des dangers et des risques (EDSTAC. 1996; OCDE. 1996).

Par ailleurs, de récentes avancées dans le domaine des biotechnologies ont permis l'émergence de nouvelles stratégies de recherche dans le domaine de la Toxicologie. La toxico-génomique, qui combine la génomique, la transcriptomique, la protéomique, la métabonomique et la bioinformatique avec la toxicologie conventionnelle, est actuellement en plein essor. Cette nouvelle discipline permet d'évaluer les profils d'expression de gènes et/ou produits de gènes modulés par un xénobiotique. Bien que ces nouvelles approches promettent de révolutionner le monde de la Toxicologie, de nombreux tests et validations sont encore nécessaires avant de pouvoir intégrer ces nouveaux outils « -omiques » dans les processus d'évaluation du risque.

De nombreuses initiatives nationales et internationales sont actuellement entreprises dans le but de promouvoir l'utilisation de ces nouvelles approches dans les études de toxicologie conventionnelle. Ainsi, aux Etats-Unis, le National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS) a créé le National Center for Toxicogenomics (NCT), et le Health and Environmental Sciences Institute (HESI) de l'International Life Science Institute (ILSI), qui coordonne un consortium international, ont pour objectifs de tester la pertinence et la reproductibilité des données d'expression génique obtenues par ces nouvelles approches, de créer des bases de données publiques permettant de relier les données d'expression de gènes et produits de gènes avec des paramètres biologiques clés, et de réussir à associer les mécanismes d'action de substances potentiellement toxiques à des profils d'expression génique caractéristiques permettant de créer des « signatures géniques » (ILSI-HESI. 1999; NIEHS. 2000).

A l'heure actuelle, il apparaît nécessaire de valider l'utilisation de nouveaux outils «-omiques » dans des études de toxicologie conventionnelle, de développer de nouveaux modèles expérimentaux ainsi que des tests de criblage reproductibles et pertinents capables de détecter les PE, afin de générer des données permettant d'améliorer notre compréhension du mécanisme d'action de ces PE au niveau du tractus génital mâle.

Les travaux de recherche effectués au cours de ces 3 années de thèse s'inscrivent dans le cadre de ce domaine d'investigation.

Nous avons ainsi étudié par des approches transcriptomique et protéomique, les mécanismes d'action, au niveau moléculaire, par lesquels des antiandrogènes de référence agissent sur l'appareil reproducteur de rats mâles. Pour ce faire, nous avons réalisé des études de toxicité aiguë, sub-aiguë après une administration répétée sur 28 jours basée sur la ligne directrice 407 améliorée de l'OCDE ainsi qu'une étude de toxicité *in utero*.

L'objectif majeur de ces travaux a été d'évaluer l'apport de nouveaux outils « -omiques » dans des études de toxicologie conventionnelles permettant une meilleure compréhension du mécanisme d'action des antiandrogènes sur l'appareil reproducteur mâle, et d'apprécier la valeur ajoutée apportées par ces approches protéomique et transcriptomique développés au cours de ce travail.

∞ ETAT DES CONNAISSANCES ∞

CHAPITRE I - Le système endocrinien

1. Le système endocrinien: Définition

Le système endocrinien (SE) contrôle et régule les grandes fonctions physiologiques de l'organisme tel que la croissance, le développement, la reproduction, le métabolisme, la pression artérielle, la glycémie, l'équilibre des fluides, le stress, la régulation et le fonctionnement de nombreux tissus (Hiller-Sturmhofel and Bartke 1998). Il constitue un des deux grands systèmes de communication de l'organisme, l'autre étant le système nerveux. Ces deux systèmes sont étroitement liés et sont regroupés sous le terme de système neuro-endocrinien (SNE).

Le SE comprend l'ensemble des organes et des tissus qui fabriquent et libèrent les hormones (messagers chimiques). Ces organes endocriniens sont des glandes endocrines, c'est-à-dire des glandes à sécrétions internes, dont le produit est directement libéré dans la circulation sanguine qui le mène vers des organes ou des cellules cibles distants, où il exerce des fonctions spécifiques (Figure 1). Par ailleurs, ces hormones peuvent également influencer l'activité des cellules voisines (activité paracrine), alors que d'autres peuvent exercer leur action positive ou négative sur la cellule même qui les a secrétées (activité autocrine). L'activité intracrine décrit l'action d'hormones au sein même des cellules où elles ont été formées, sans libération significative dans le compartiment extracellulaire et la circulation générale. Certaines glandes du SE sont dites endo-exocrines, comme par exemple le pancréas ou les gonades. Ainsi le testicule est constitué de deux types de structure, l'une impliquée dans la synthèse d'androgènes (fonction endocrine) et l'autre dans la production de gamètes mâles (fonction exocrine).

Il est intéressant de noter que de nombreuses hormones types ont été découvertes dans des sites où elles n'ont pas de fonctions supposées. On retrouve ainsi des composants du système rénine-angiotensine, des peptides intestinaux, comme la gastrine, la cholécystokinine, le peptide vaso-intestinal (VIP) et le peptide inhibiteur gastrique (GIP) dans le cerveau où leurs fonctions restent indéterminées. L'endorphine est décelée dans les intestins et l'hormone de croissance dans les cellules des îlots de Langerhans.

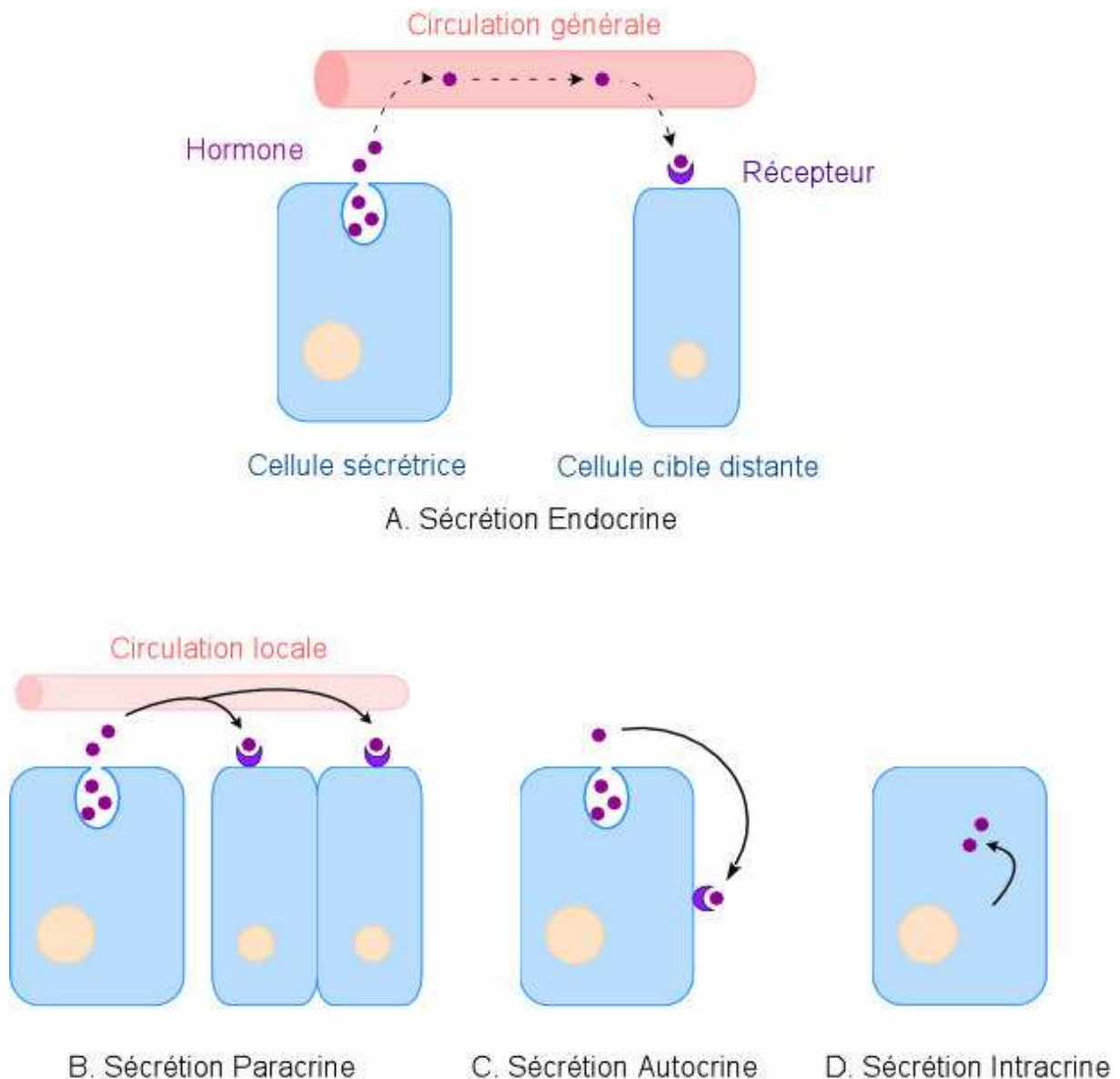


Figure 1: Différents modes de sécrétion des hormones

Une hormone est une substance chimique sécrétée dans l'organisme et qui agit sur un récepteur du tissu cible pour en modifier le fonctionnement.

Les hormones sécrétées par les glandes endocrines sont transportées par le sang jusqu'aux sites sur lesquels elles agissent et traduisent le mode classique d'action de l'appareil endocrinien **(A)**. Toutefois, il existe des hormones endocrines transportées par le sang et qui peuvent influencer l'activité des cellules voisines, activité paracrine **(B)**; alors que d'autres peuvent exercer leur action sur la cellule même qui les a sécrétées, activité autocrine **(C)**, ou au sein même des cellules où elles ont été formées, sans libération significative dans le compartiment extracellulaire et la circulation générale, activité intracrine **(D)**.

2. Les principales glandes endocrines

Les principales glandes endocrines sont représentées dans la figure 2. Elles comprennent (Nussey and Whitehead 2001) :

- **L' épiphyse** (glande pinéale) : située dans le cerveau, elle synthétise la sérotonine, précurseur de la mélatonine qui est produite sous la dépendance de l'intensité lumineuse. Elle jouerait un rôle important dans les rythmes biologiques ainsi que sur la reproduction et les fonctions immunitaires (Macchi and Bruce 2004).
- **L' hypophyse** (glande pituitaire) : située à la base du cerveau, elle est sous le contrôle de l'hypothalamus à laquelle elle est attachée. Cette glande sert d'agent de liaison entre le système nerveux et le système endocrinien. C'est une glande maîtresse de l'organisme, puisqu'elle secrète un grand nombre d'hormones qui contrôlent et régulent la fonction d'autres glandes endocrines. Elle est constituée de trois lobes : l'antéhypophyse (ou adénohypophyse) située en avant, le lobe intermédiaire et la posthypophyse (ou neuro-hypophyse) située en arrière.
 - ♦ **L'antéhypophyse** contient de nombreux types cellulaires différents qui sécrètent chacun une ou plusieurs des hormones:
 - Hormones trophiques ou stimulines :
 - L'hormone adrenocorticotrope (ACTH), ou corticotrophine, est sécrétée par les cellules basophiles. Elle stimule le cortex des glandes surrénales, induisant la synthèse de corticostéroïdes tels que les glucocorticoïdes et les androgènes (déhydroépiandostérone, androstènedione) à partir du cholestérol.
 - L'hormone thyrostimulante (TSH), ou thyrotrophine, agit sur la thyroïde.
 - L'hormone folliculostimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH), stimulent les glandes sexuelles. Ces hormones (gonadotrophines) sont produites par les cellules gonadotropes.
 - L'hormone lutéotropique, ou prolactine (PRL), sécrétée par les cellules lactotropes, participe à la croissance des glandes mammaires et au contrôle de la production de lait.
 - Hormone de croissance (GH), ou somatotrophine :

Elle favorise le développement des tissus de l'organisme, en particulier la trame osseuse et les muscles, agit sur le métabolisme glucidique, favorise la synthèse protéique et la dégradation des lipides. Elle joue également un rôle dans la régulation fine des phénomènes de reproduction aussi bien chez les

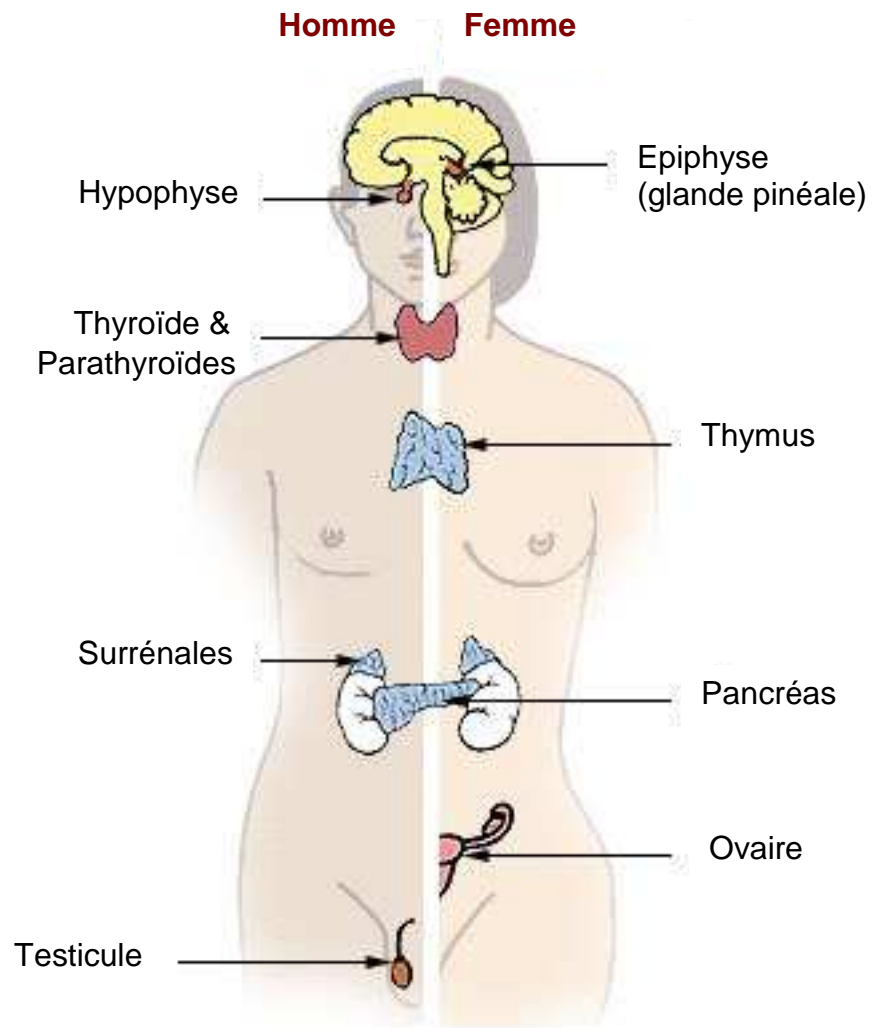


Figure 2: Principales glandes endocrines

mammifères mâles que femelles. Chez le mâle, la GH a des fonctions extra gonadiques, comme l'accroissement et le maintien de la taille du pénis, la différenciation des canaux spermatiques chez l'adolescent et la stimulation de la synthèse d'enzymes dans certaines glandes annexes (vésicules séminales et prostate). Cette hormone a aussi des effets sur les fonctions gonadiques, comme la spermiogenèse, la stimulation de la synthèse des androgènes, l'accroissement de la mobilité des spermatozoïdes (Hull and Harvey 2000).

- Les endorphines :

Peptides découverts dans les années 1970, agissant sur le système nerveux central et périphérique pour réduire la sensibilité à la douleur.

- ♦ Le **lobe intermédiaire** sécrète l'hormone mélanotrope (MSH) qui régule l'intensité de la pigmentation des cellules pigmentaires par la mélanine.
- ♦ La **posthypophyse**, projection de l'hypothalamus, ne produit pas ses propres hormones mais stocke les hormones produites par l'hypothalamus et les distribue sous forme de neurosécrétions.
 - La vasopressine, ou hormone antidiurétique (ADH) qui contrôle la quantité d'eau excrétée au niveau des reins et augmente la pression sanguine.
 - L'ocytocine qui stimule les contractions utérines et celles des canaux galactophores lors de l'allaitement.

La sécrétion des hormones antéhypophysaires est sous le contrôle de l'hypothalamus par sécrétion d'une neuro-hormone correspondante. Ces facteurs peuvent être activateurs, nommés Releasing Factors (RF) ainsi qu'inhibiteurs ou Inhibiting Factors (IF). Ainsi, la sécrétion de thyrotrophine est stimulée par l'hormone thyroïdienne (TRH), les sécrétions de la LH et de la FSH sont sous le contrôle de la GnRH (Gonadotropine Releasing Hormone ou gonadolibérine) et celles de l'hormone de croissance sont sous le contrôle du GH-RF. La sécrétion de prolactine est stimulée par le PRF et par la TRH et, inhibée par le PIF qui n'est autre que la dopamine. Les œstrogènes sont capables d'augmenter le taux de prolactine en diminuant la sécrétion de dopamine et en agissant directement sur l'hypophyse.

- **Thyroïde** : Les hormones thyroïdiennes (thyroxine, T4, et tri-iodothyronine, T3) augmentent la consommation en oxygène et stimulent le métabolisme, régulent la croissance et la maturation des tissus de l'organisme, affectent la vigilance et

l'humeur. La thyroïde sécrète également la calcitonine, qui abaisse le taux sanguin de calcium (calcémie) en inhibant la résorption osseuse.

- **Parathyroïdes** : Glandes à proximité de la thyroïde ou enchâssées dans celle-ci. L'hormone parathyroïdienne (PTH), ou parathormone, régule les taux de calcium et de phosphore dans le sang.
- **Thymus** : Il sécrète la thymopoïétine et la thymosine qui régulent la maturation des lymphocytes T.
- **Surrénales** : situées au-dessus des reins, elles sont composées de deux structures : l'une périphérique, la glande corticosurrénale, l'autre centrale, la médullosurrénale.
 - ♦ La **médullosurrénale** sécrète l'adrénaline et la noradrénaline (catécholamines), qui ont une action stimulante sur le cœur, augmentent la pression sanguine et agissent sur la dilatation et la constriction des vaisseaux sanguins et des muscles, permettant ainsi à l'organisme de répondre plus vite et avec plus d'efficacité aux situations critiques. De plus, l'adrénaline (mais pas la noradrénaline) augmente la glycémie.
 - ♦ La **corticosurrénale** fabrique les glucocorticoïdes (cortisol) et les minéralocorticoïdes (aldostérone). Les sécrétions corticosurrénales régulent l'équilibre en eau et en sel de l'organisme, influencent la pression sanguine, agissent sur les tissus lymphatiques et sur les mécanismes du système immunitaire et régulent le métabolisme glucidique et protidique. La corticosurrénale sécrète également des hormones stéroïdes sexuelles comme la déhydroépiandostérone (DHEA) et la testostérone (Labrie 2004).
- **Pancréas** : Le corps du pancréas est constitué d'un tissu exocrine qui libère les sucs gastriques dans le duodénum. Répartis le long de ce tissu, les îlots de Langerhans (cellules endocriniennes) sécrètent l'insuline et le glucagon. L'insuline agit sur les métabolismes glucidique, protidique et lipidique, augmentant le niveau d'utilisation du glucose et diminuant son taux sanguin. Elle favorise la formation de protéines et le stockage de lipides. Le glucagon augmente temporairement la glycémie en provoquant la libération du glucose du foie.
- **Ovaires** : Ce sont les glandes génitales femelles, responsables de la sécrétion des hormones œstrogènes, nécessaires au développement des organes reproducteurs et à l'acquisition des caractères sexuels secondaires comme la répartition des graisses, l'ouverture du bassin, le développement de la poitrine et l'apparition des poils pubiens et axillaires. Les ovaires fabriquent également une hormone appelée relaxine, qui induit la dilatation du col de l'utérus pendant l'accouchement.

Glande endocrine	Hormone	Abbr.	Fonction(s) principale(s)
Hypothalamus	Thyrotropin-releasing hormone	TRH	Stimule la sécrétion de TSH et PRL
	Gonadotropin-releasing hormone	GnRH	Stimule la sécrétion de FSH et LH
	Growth hormone-releasing hormone	GHRH	Stimule la sécrétion de GH
	Corticotropin-releasing hormone	CRH	Stimule la sécrétion de ACTH et des endorphines
	Somatostatin	SS	Inhibe la sécrétion de GH, TSH, hormones pancréatiques et gastro-intestinal
	Dopamine	DA	Inhibe la sécrétion de PRL
	Pro-opiomelanocortin	POMC	Précurseur de l'ACTH et de la MSH
Epiphyse	Mélatonine		Horloge biologique; Agit sur la reproduction, le système immunitaire et comme antioxydant
Hypophyse	Luteinizing hormone	LH	Agit sur les ovaires pour stimuler la sécrétion d'œstrogènes et induire l'ovulation chez les femelles et agit sur les testicules pour stimuler la sécrétion de testostérone chez les mâles
	Follicle-stimulating hormone	FSH	Stimule la maturation des follicules ovariens chez les femelles et régule la spermatogenèse chez les mâles
	Adrenocorticotrop hormone	ACTH	Stimule la sécrétion de corticostéroïdes (glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes et androgènes) par les glandes corticosurrénales
	Growth hormone	GH	Stimuler la croissance et le développement
	Prolactin	PRL	Stimule les glandes mammaires et la lactation
	Thyroid-stimulating hormone	TSH	Agit sur la glande thyroïde pour déclencher la sécrétion de thyroxine
	Melanocyte-stimulating hormone	MSH	Influe sur la pigmentation de la peau en stimulant la production de mélanine
	Antidiuretic hormone	ADH	Agit sur les reins pour diminuer la sécrétion d'urine et maintenir l'équilibre électrolytique
	Ocytocin		Stimule les contractions de l'utérus au moment de l'accouchement et la lactation après l'accouchement
Pancréas	Insulin / Glucagon		Régule le taux de glucose sanguin
Thyroïde	Triiodothyronine et thyroxine	T3 et T4	Régulent le métabolisme, la croissance et la maturation des tissus de l'organisme
	Calcitonin		Diminue la concentration du calcium dans le sang en stimulant son absorption par les os
Glandes parathyroïdes	Parathyroid hormone	PTH	Régule des taux de calcium et de phosphore dans le sang
Surrénale	Cortisol		Régule les fonctions cardiovasculaires, immunologiques, métaboliques, and homeostatiques
	Dehydroepiandrosterone	DHEA	Action "anti-âge"
	Aldostérone		Rôle crucial dans le maintien de la volémie plasmatique et de la tension artérielle via son action sur le rein (stimule la réabsorption du sodium et l'excrétion de potassium)
	Catécholamines		Augmentent la pression sanguine, produites au cours de l'effort et d'un stress.
Ovaires	Estrogènes	E2, E1, E3	Stimule le développement des organes reproducteurs et des caractères sexuels féminins, régule le cycle menstruel.
	Progesterone	P4	Préparation de l'endomètre à l'implantation de l'œuf, maintien de la grossesse, préparation des glandes mammaires à la production de lait.
	Testosterone	T	Précurseur de l'œstrogène; agit sur la libido.
	Inhibin		Rétro-régulation de la sécrétion hypophysaire de FSH
Testicules	Testosterone	T	Détermination des caractères sexuels secondaires mâles, production des spermatozoïdes, intervient dans la croissance et le développement musculaire et la libido
	Dihydrotestosterone	DHT	Détermination de certains caractères sexuels secondaires des mâles
	Inhibin		Rétro-régulation de la sécrétion hypophysaire de FSH
Cœur	Atrial-natriuretic peptide	ANP	Régule la pression artérielle et l'équilibre ionique dans l'organisme
Placenta	Progesterone	P4	Maintien de la grossesse
	Estriol	E3	Forme principale d'œstrogènes produite pendant la grossesse
	Human chorionic gonadotropin	HCG	Maintien la production de progesterone

Table 1 : Les différentes hormones et leurs fonctions principales

Hormones peptidiques

Hormones stéroïdes

Hormones monoaminées

- **Testicules** : Ils sont constitués de 2 compartiments: un compartiment tubulaire composé de tubes séminifères contenant les cellules de Sertoli et les cellules germinales assurant la fonction exocrine (spermatogenèse) ; un compartiment interstitiel comportant plusieurs types cellulaires dont les cellules de Leydig qui assurent la fonction endocrine du testicule (stéroïdogénèse) en produisant les androgènes. La plus importante de ces hormones est la testostérone, qui stimule le développement des caractères sexuels secondaires, influence la croissance des glandes annexes (prostate, vésicules séminales, ...), et favorise l'activité sécrétoire de ces structures.

De plus, un certain nombre de tissus de l'organisme, qui ne sont pas des glandes au sens strict du terme, assument pourtant une fonction endocrine et produisent des hormones.

C'est le cas du **placenta**, qui pendant la grossesse, devient le principal producteur d'hormones stéroïdes. Il prend en charge certaines des fonctions endocriniennes de l'hypophyse et des ovaires nécessaires au maintien de la grossesse. Il sécrète une hormone appelée gonadotrophine chorionique (hCG) (Acevedo 2002), substance retrouvée dans l'urine au cours de la grossesse et sur laquelle reposent les tests de grossesse. Les **reins** sécrètent la rénine et l'érythropoïétine qui augmentent respectivement la pression sanguine et la production des globules rouges par la moelle osseuse (Peart 1977). Le **tractus gastro-intestinal** régule les fonctions du système digestif par la sécrétion de gastrine par l'estomac et la sécrétine et la cholécystokinine au niveau de l'intestin supérieur qui activent la sécrétion des sucs digestifs et des hormones du pancréas. La cholécystokinine permet également la contraction de la vésicule biliaire. Il a également été montré que le **cœur** sécrète lui aussi une hormone, appelée facteur natriurétique auriculaire (ANP) (de Bold 1985) qui joue un rôle dans la régulation de la pression sanguine et de l'équilibre du sel et de l'eau dans l'organisme.

La table 1 résume les principales hormones endocrines ainsi que leurs fonctions. Afin de rendre compte de la complexité du SE, on peut noter qu'une même glande endocrine peut sécréter plusieurs hormones, qu'une hormone donnée peut avoir des effets différents sur différentes cellules cibles, qu'un processus physiologique peut être contrôlé par plusieurs hormones et enfin qu'il est fréquent que différentes structures endocrines agissent les unes sur les autres afin de moduler leurs fonctionnements.

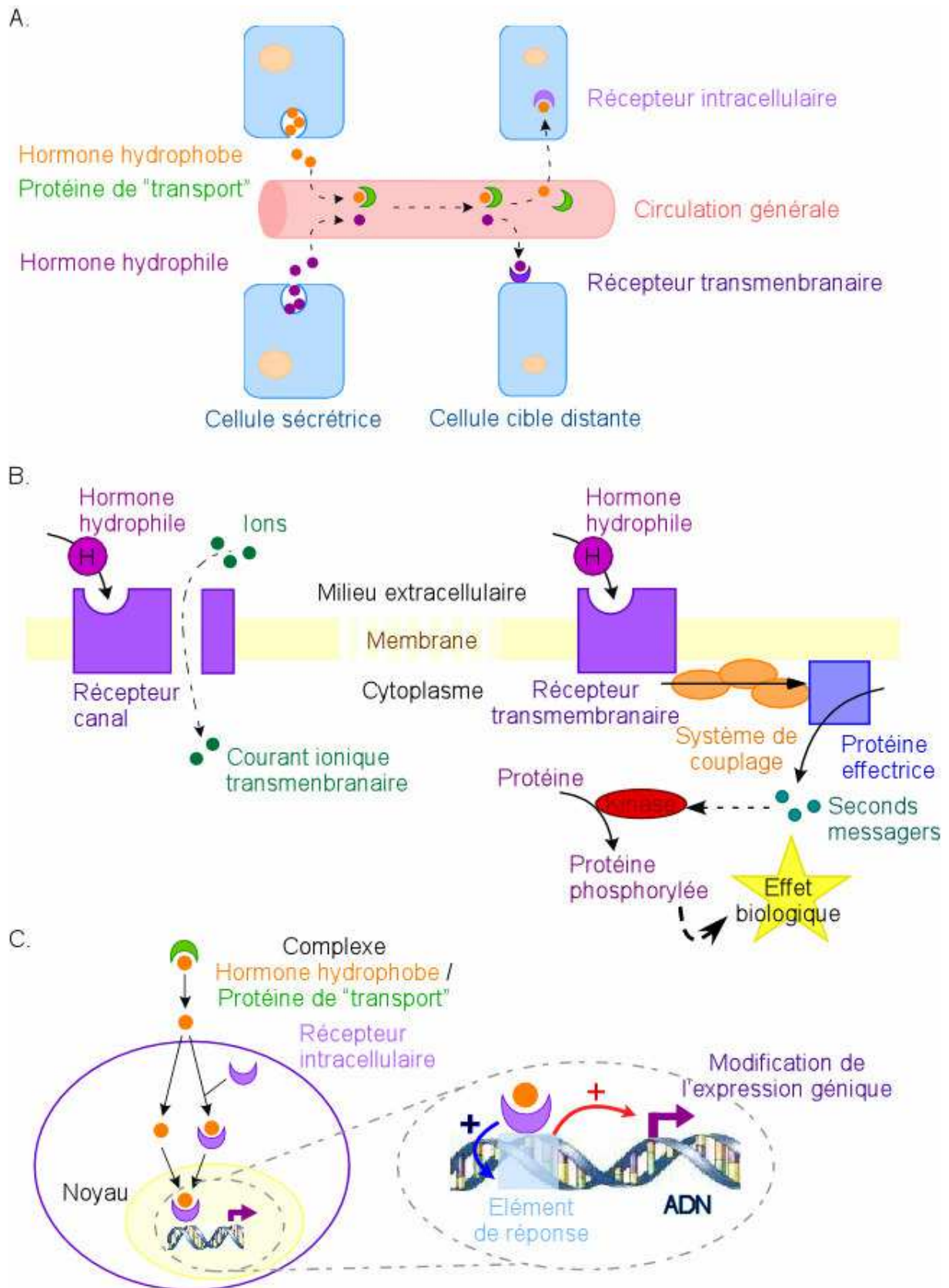


Figure 3 : Mécanismes cellulaires d' action des hormones

A. Mécanisme général

B. Via les récepteurs transmembranaires (réponses immédiates ou légèrement différées)

C. Via les récepteurs nucléaires (réponses différées de quelques heures)

3. Les différentes classes d'hormones

Les hormones peuvent être classées en trois groupes selon leurs natures biochimiques: les protéines, les stéroïdes, et les amines.

Les **hormones peptidiques**, sont de taille et de structure très diverses. Elles sont synthétisées par les ribosomes du réticulum endoplasmique et empaquetées dans des vésicules sécrétoires au niveau de l'appareil de Golgi. Ces vésicules permettent le franchissement de la bicouche lipidique membranaire, et ainsi la circulation de ces hormones dans le sang. Les hormones atteignent leurs organes cibles sur lesquels elles agissent par l'intermédiaire de récepteurs protéiques transmembranaires qui servent de relais pour transmettre les signaux à l'intérieur de la cellule (Figure 3 A). Cette classe d'hormones comprend les hormones produites par l'antéhypophyse, les parathyroïdes, le placenta, le pancréas ainsi que les hormones activatrices de l'antéhypophyse produites par l'hypothalamus.

Les **hormones stéroïdes** sont des lipides synthétisés dans le cytosol à partir du cholestérol. Ces hormones hydrophobes traversent aisément les membranes plasmiques et doivent se complexer avec des protéines plasmatiques pour circuler dans le sang. La protéine de « transport » ne libère l'hormone stéroïde qu'au niveau des capillaires sanguins qui irriguent les organes cibles. Elles pénètrent ensuite dans le cytoplasme de leurs cellules cibles où elles se lient à des récepteurs intracellulaires (Figure 3 A). Ces récepteurs appartiennent à une grande famille de molécules protéiques qui sont les récepteurs nucléaires. Dans ce groupe d'hormones se retrouvent les hormones sécrétées par les corticosurrénales et par les gonades.

Les **hormones monoaminées** dérivent d'acides aminés, principalement de la tyrosine et du tryptophane, et sont des molécules de petite taille. Elles sont produites soit par la médullosurrénale (catécholamines) et circulent librement dans le sang pour agir sur les cellules cibles par le biais de récepteurs transmembranaires, comme les hormones peptidiques, soit par la thyroïde (T3 et T4) et agissent au niveau de récepteurs nucléaires comme le font les stéroïdes. La synthèse de ces hormones est intracellulaire et, dans la plupart des cas, le produit est retenu à l'intérieur de la cellule jusqu'à sa libération dans le sang.

4. Mécanismes cellulaires d'action des hormones

Le processus selon lequel les hormones exercent leurs nombreuses actions métaboliques et morphologiques n'est pas toujours connu. Les effets sur la fonction cellulaire sont déclenchés par leur action sur les membranes cellulaires, sur les enzymes, par la régulation de l'expression des gènes ou par le contrôle de la libération des ions et d'autres petites molécules.

Une hormone agit spécifiquement sur une cellule cible car elle seule possède des récepteurs spécifiques de l'hormone. Ces récepteurs sont présents soit dans la membrane plasmique (récepteurs transmembranaires), soit dans la cellule (récepteurs intracellulaires).

Les hormones peptidiques, les catécholamines, la dopamine et la mélatonine (hormones hydrophiles) agissent via les **récepteurs transmembranaires**. Ces récepteurs sont des protéines qui participent au passage de l'information véhiculée par l'hormone vers le cytoplasme, sans que celle-ci ne pénètre à l'intérieur de la cellule cible. La fixation de l'hormone sur la face externe du récepteur active ce dernier, conduisant des réponses immédiates (ouverture de canaux ioniques) ou très légèrement différées (système de transduction du signal) (Figure 3 B).

Les hormones stéroïdes et thyroïdiennes (hormones hydrophobes) agissent via des **récepteurs intracellulaires**. Les récepteurs de cette famille interagissent avec leur ligand spécifique au niveau du cytoplasme et/ou du noyau et agissent directement au niveau du noyau en modulant la transcription en ARN messager de divers gènes spécifiques (Figure 3 C). Pour cette raison, ces récepteurs intracellulaires sont souvent dénommés «récepteurs nucléaires» et ils sont donc des facteurs de transcription dont l'activité est dépendante de la liaison de leurs ligands. La réponse biologique induite se produit après quelques heures mais est durable.

5. Régulation du système endocrinien

Le rôle du SE est de maintenir l'homéostasie, c'est-à-dire un état d'équilibre intérieur face à des modifications du milieu extérieur. La libération des hormones peut être modulée par la concentration sanguine d'autres hormones, des variations homéostatiques (concentrations ioniques, nutriments, ...), des stimuli du système nerveux ainsi que des

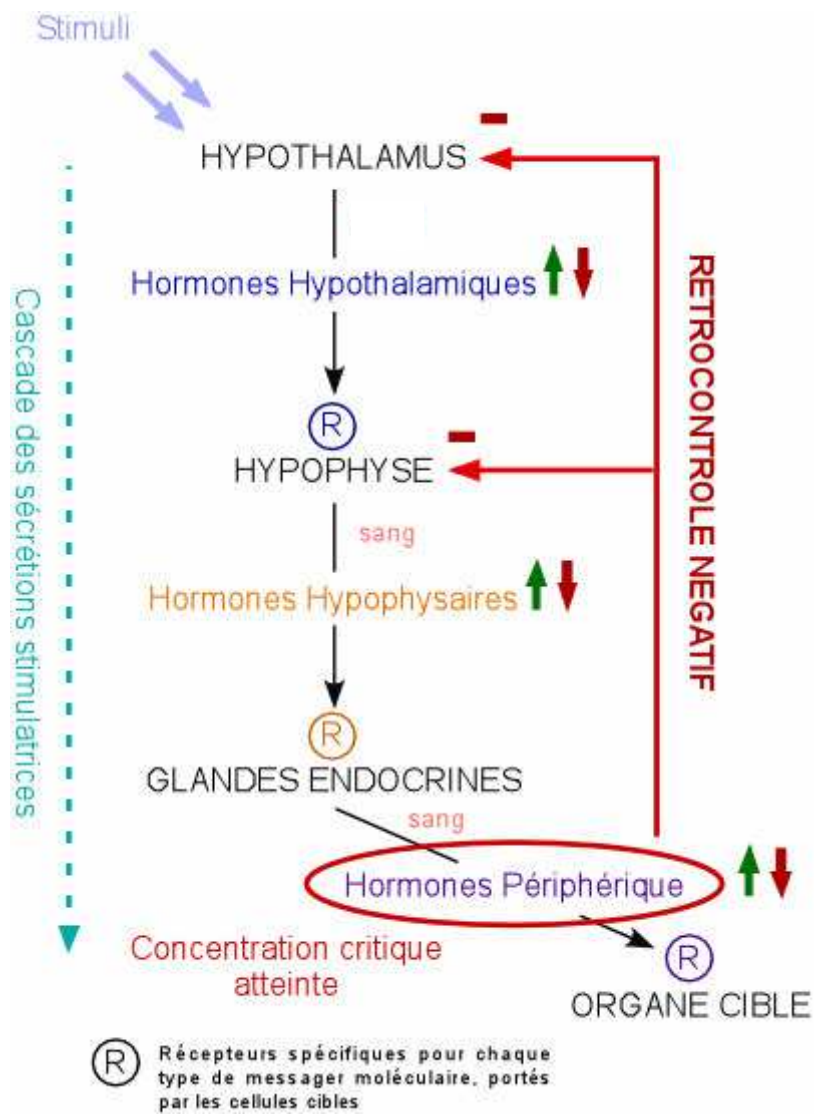


Figure 4 : Exemple de mécanisme de rétrocontrôle

variations environnementales (stress, lumière, ...). La régulation de la sécrétion hormonale se fait par l'intermédiaire d'un mécanisme de rétrocontrôle.

La fonction endocrinienne est étroitement régulée par le système nerveux, comme le prouvent les réponses surrénales à la survenue d'un stress. Les différents organes endocrines sont sous la dépendance du système nerveux de plusieurs manières. La médullosurrénale et la posthypophyse, glandes richement innervées, sont directement contrôlées par le système nerveux. Le cortex surrénal, la thyroïde et les gonades, bien que n'ayant pas d'innervation apparente, répondent à divers stimuli nerveux.

En effet, la régulation des grandes fonctions physiologiques est assurée par la structure hypothalamo-hypophysaire. **L'hypothalamus**, bien que fabriquant des hormones et certains facteurs régulant l'activité de l'hypophyse, r'appartient pas au SE mais au système nerveux central (SNC). Les neurohormones produites par les neurones sécréteurs de l'hypothalamus agissent sur les cellules endocrines de l'hypophyse qui secrètent un grand nombre d'hormones régulant les fonctions de nombreuses glandes endocrines, ainsi que d'organes cibles, de manière indirecte. **L'hypophyse** permet ainsi de faire la liaison entre le système nerveux et le système endocrinien. Ces deux systèmes, très étroitement liés, sont regroupés sous le terme de système neuro-endocrinien (SNE).

La production d'hormones par l'hypothalamus et par l'antéhypophyse est inhibée lorsque les hormones fabriquées par l'une de ses glandes cibles circulent dans le sang à un seuil trop élevé. Ce phénomène est appelé rétrocontrôle négatif et c'est grâce à ce processus que les concentrations d'hormones en circulation sont constamment équilibrées (Figure 4).

La libération d'hormones est également régulée par la concentration de certaines substances dans le sang, dont la présence et l'utilisation sont sous contrôle hormonal. Des concentrations élevées de glucose dans le sang, par exemple, stimulent la production et la libération d'insuline, alors qu'une baisse de la glycémie stimule la production d'adrénaline et de glucagon. Ce système maintient en permanence la glycémie dans des taux physiologiquement acceptables. De la même façon, une carence en calcium dans le sang stimule la sécrétion de l'hormone parathyroïdienne, et, inversement, un taux élevé de calcium stimule la libération de calcitonine par la thyroïde.



Figure 5: Structure interne de l' appareil génital mâle

Les **gonades**, le **tractus génital**, les **glandes annexes** et le **tractus uro-génital** sont localisés sur ce schéma.

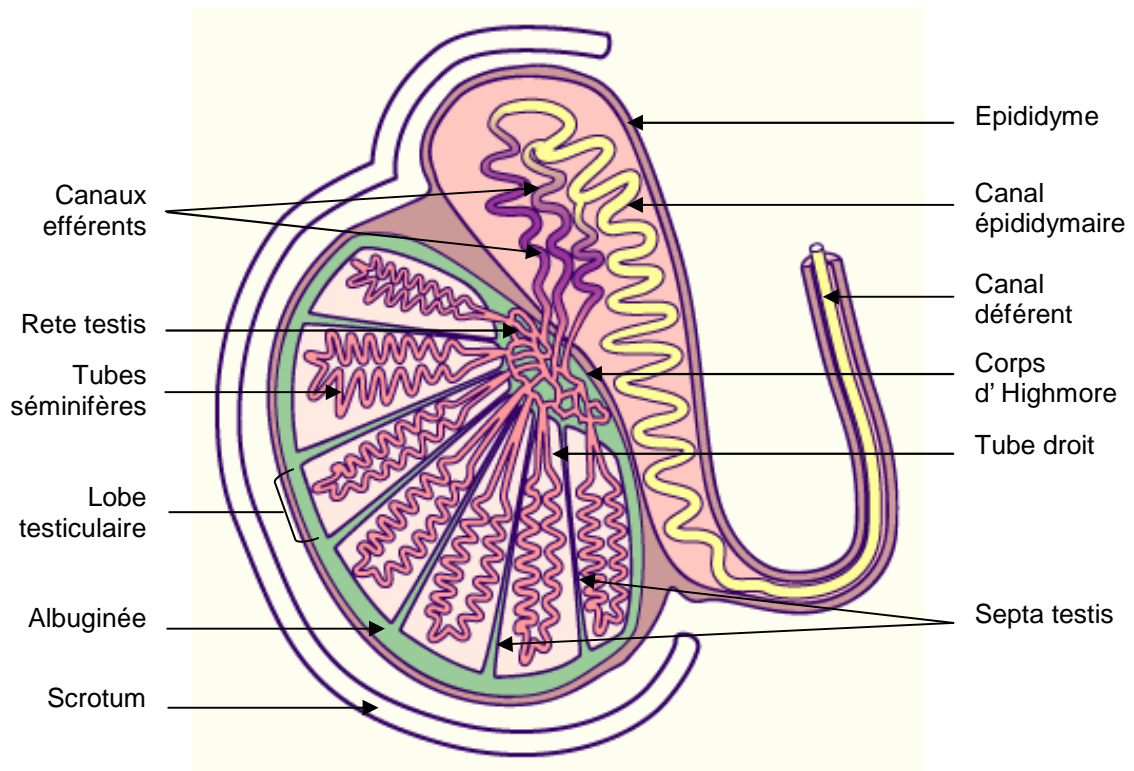


Figure 6: Structure interne du testicule (coupe longitudinale)

CHAPITRE II - L'appareil reproducteur mâle

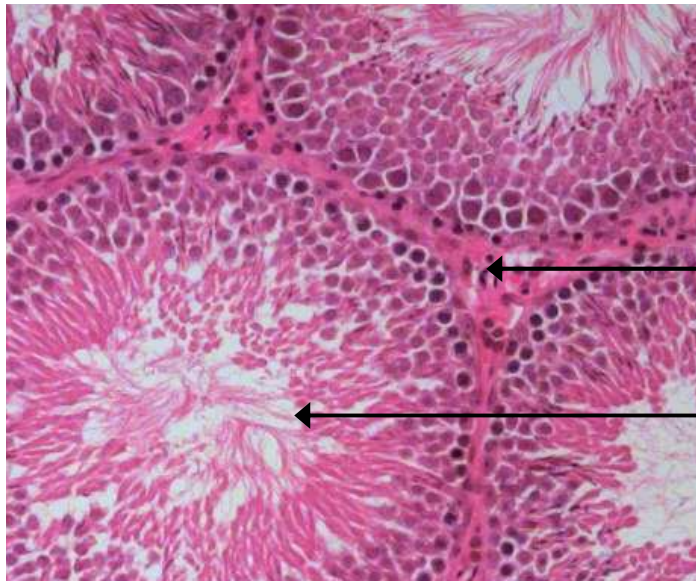
L'appareil reproducteur mâle (Figure 5) comprend :

- **deux gonades**, ou testicules, assurant deux fonctions essentielles qui sont la formation des gamètes mâles ou spermatozoïdes, assimilé à une fonction exocrine, et la synthèse et sécrétion d'hormones stéroïdes (androgènes, essentiellement la testostérone), fonction endocrine.
- le **tractus génital** formé des voies spermatiques intra et extra testiculaires (tubes droits et rete testis, canaux ou cônes efférents, épидидyme, canal déférent, canal éjaculateur) assurant le transport des spermatozoïdes.
- les **glandes annexes** (vésicules séminales, prostate et glandes de Cowper) qui secrètent le liquide de transport et de nutrition des spermatozoïdes, constituant avec ces derniers le sperme.
- le **tractus uro-génital**, représenté par l'urètre (prostatique, périnéal et pénien), s'ouvrant à l'extérieur par le méat urinaire.

1. Morphologie et histologie du testicule

Les testicules (Figure 6) sont deux organes pairs ovoïdes, chacun logé dans une poche revêtue d'une peau appelée scrotum. Le testicule est entouré d'une capsule épaisse, riche en tissu conjonctif et de fibres de collagènes, appelée albuginée. Au pôle supérieur, cette capsule s'épaissit et s'enfonce à l'intérieur du testicule pour former un cône fibreux, le corps d'Highmore. Du corps d'Highmore partent des cloisons conjonctives radiaires, les septa testis, délimitant 200 à 300 lobules testiculaires plus ou moins triangulaires. Chaque lobule contient 2 à 4 tubes séminifères très longs. C'est dans ces tubes que se divisent et se différencient les cellules germinales jusqu'à la formation des spermatozoïdes. Les espaces entre ces tubes sont occupés par un tissu interstitiel, conjonctif lâche riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques et en fibres nerveuses, et contenant des cellules glandulaires du type endocrine, appelées cellules de Leydig. Les tubes séminifères se prolongent par de petits tubes courts et rectilignes appelés tubes droits qui pénètrent ensuite dans le corps de Highmore et forment un réseau de canalicules, le rete testis, se poursuivant par des tubes efférents établissant le lien entre le rete testis et l'épididyme qui coiffe le testicule. Le testicule est suspendu dans le sac scrotal par le cordon spermatique qui contient le canal déférent, des vaisseaux sanguins et lymphatiques, et des fibres nerveuses.

A.



Compartiment
interstitiel

Compartiment
tubulaire

B.

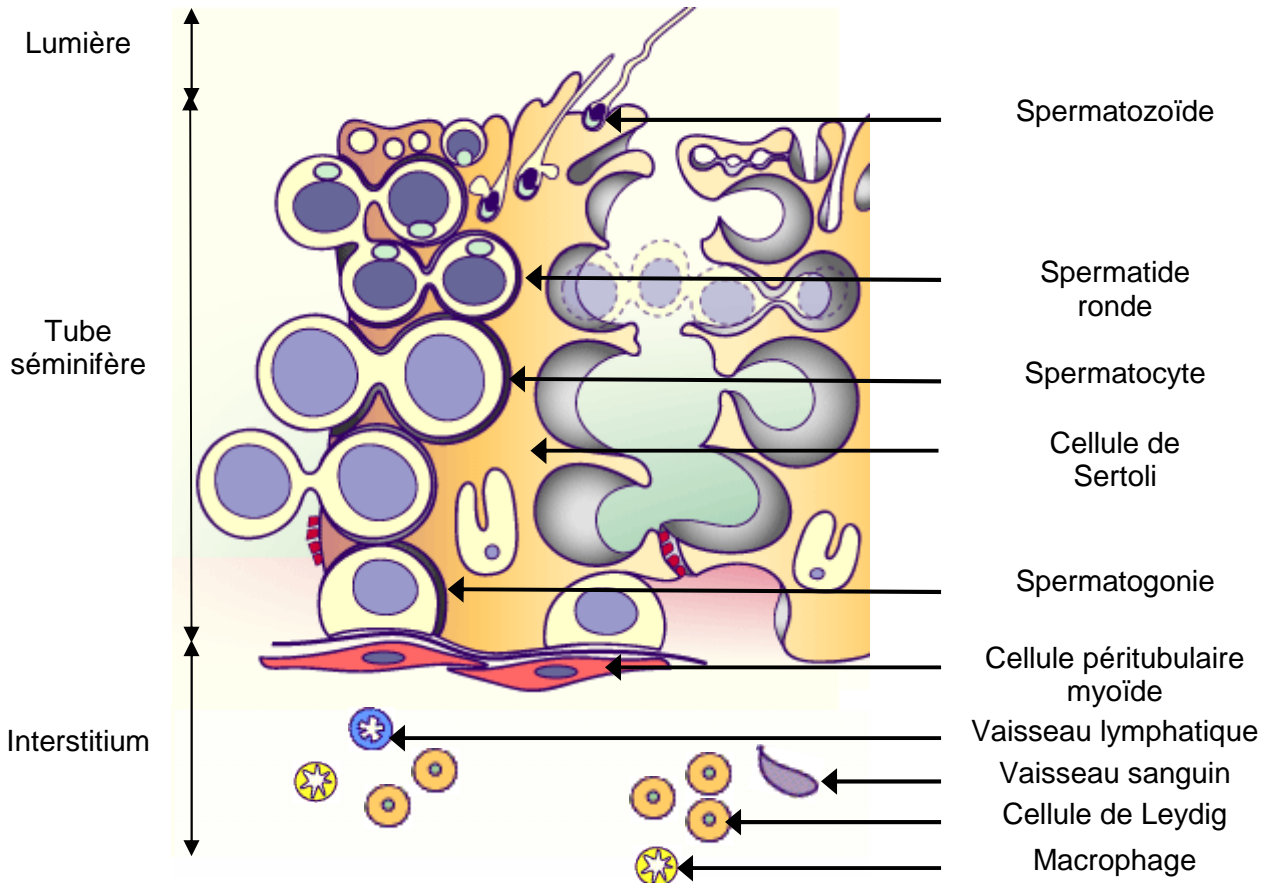


Figure 7: Structure interne du testicule

A. Photographie d'une coupe transversale de testicule de rat adulte

B. Schéma des compartiments tubulaires et interstitiels

2. Physiologie et fonctions du testicule

Le testicule est composé de deux compartiments histologiques distincts: les tubes séminifères, là où a lieu la spermatogenèse, fonction exocrine, et l'interstitium entre les tubes séminifères, siège de la stéroïdogénèse, fonction endocrine (Figure 7). Les tubes séminifères représentent 90 % du volume testiculaire.

2.1 Le compartiment interstitiel et fonction endocrine

2.1.1 L'interstitium

L'interstitium, tissu conjonctif lâche, est riche en vaisseaux sanguins et lymphatiques. Il contient également plusieurs types cellulaires tels que les cellules de Leydig, les cellules péritubulaires myoïdes, les fibroblastes et les macrophages (Leeson 1963).

Les **cellules de Leydig** sont les cellules majoritaires de l'interstitium chez l'rat. Elles représentent moins de 5 % des cellules du testicule. Ces cellules sont de forme polygonale et contiennent un noyau ovoïde avec un nucléus caractéristique. Ces cellules glandulaires du type endocrine possèdent une ultrastructure caractéristique des cellules synthétisant des stéroïdes: présence de nombreuses gouttelettes intracytoplasmiques de cholestérol, d'un réticulum endoplasmique lisse abondant et des mitochondries à crêtes tubulaires (Christensen and Fawcett 1966). Dès la puberté les cellules de Leydig produisent d'importantes quantités de testostérone, qui a un rôle déterminant sur le développement des caractères sexuels secondaires mâles. La testostérone diffuse également vers les tubes séminifères où elle joue un rôle essentiel sur la spermatogenèse.

Les **macrophages** jouent un rôle important dans la régulation de la fonction endocrine des cellules de Leydig (Hales 1996). Ces cellules sont capables d'inhiber la synthèse des stéroïdes par le biais de cytokines (IL-1) ou autres facteurs (TNF- α), ainsi que de réguler la prolifération et le développement des cellules de Leydig (via des cytokines et facteurs de croissance). De plus ces cellules sont capables de phagocyter les cellules de Leydig dégénérantes.

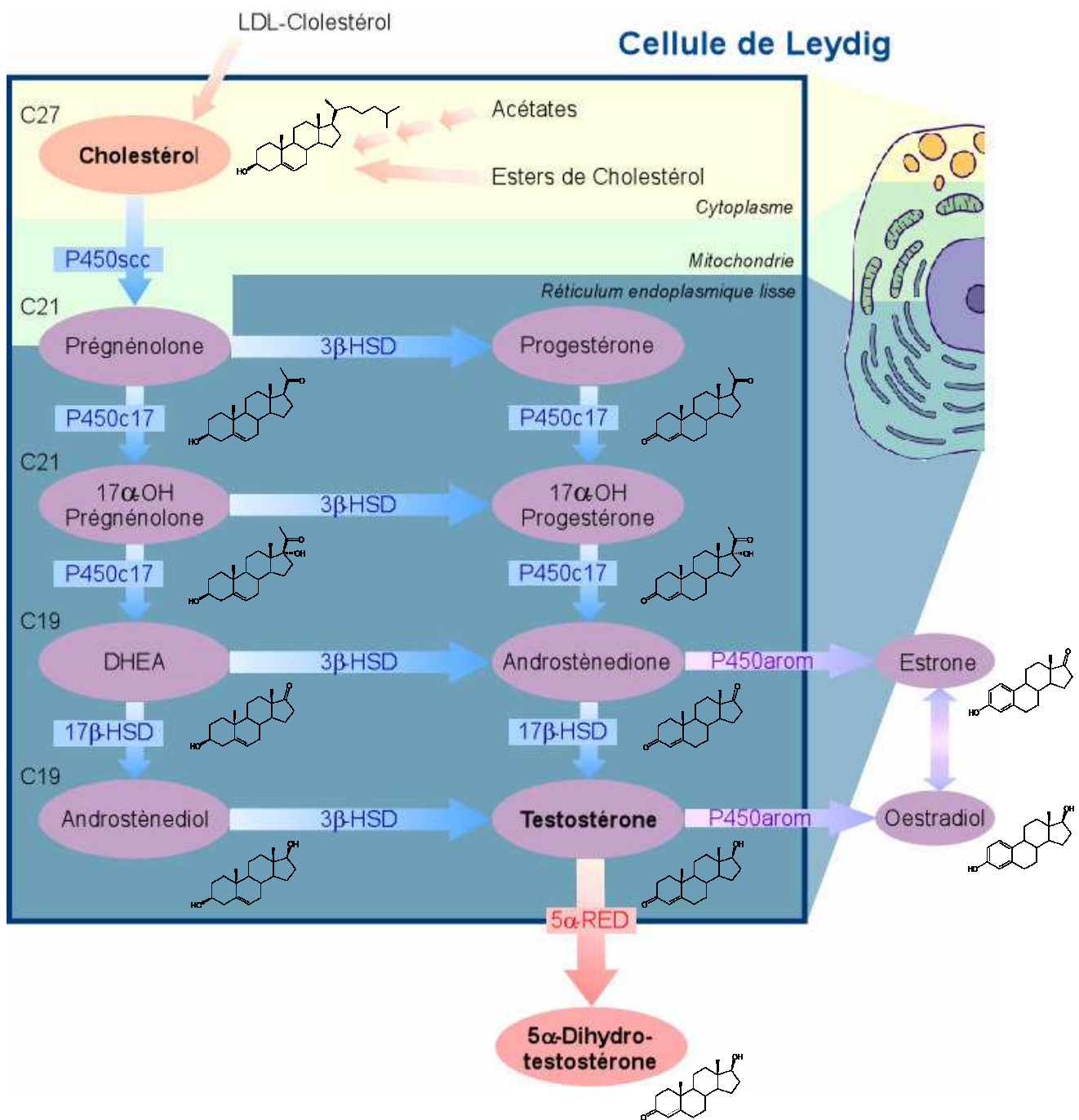


Figure 8 : Biosynthèse de la testostérone au niveau des cellules de Leydig

P450scc : Cytochrome P450scc (Cyp11a1) ; 3β-HSD : 3β-hydroxystéroïde déshydrogénase (Hsd3b1) ; P450c17 : Cytochrome P450c17 (Cyp17a1) activités 17α-hydroxylase & C17-20-lyase ; 17β-HSD : 17β-hydroxystéroïde déshydrogénase (Hsd17b3) ; P450arom : P450 aromatase (Cyp19) ; 5α-RED : 5α-réductase.

Dans l'espace interstitiel on retrouve également les **cellules péricubulaires myoïdes** qui jouent le rôle de relais, entre les cellules de Leydig et les tubes séminifères, pour les effets de la testostérone ainsi que pour d'autres hormones et facteurs de croissance. Les **vaisseaux lymphatiques** permettent quant à eux, le drainage lymphatique du testicule.

Enfin, on retrouve des **artérioles** et **capillaires sanguins** qui délivrent les facteurs de régulation endocrine, la LH et la FSH aux cellules cibles du testicule.

2.1.2 Stéroïdogénèse: Biosynthèse des androgènes

Dans les gonades, au niveau des cellules de Leydig, la biosynthèse des hormones sexuelles (androgènes) nécessite l'intervention d'un certain nombre d'enzymes agissant en cascade à partir d'un précurseur commun à tous les stéroïdes, le cholestérol (Saez 1994). Il existe différentes sources de cholestérol dans l'organisme. Il peut provenir soit des lipoprotéines circulantes (HDL, LDL) (Morris and Chaikoff 1959; Benahmed *et al.* 1981), soit des esters de cholestérol qui sont contenus dans les gouttelettes lipidiques intracellulaires (stock), soit de la synthèse endogène à partir d'acétate (Hou *et al.* 1990).

Le transport du cholestérol du cytoplasme vers la membrane mitochondriale, où a lieu la première réaction enzymatique de la stéroïdogénèse, est une étape clef et limitante de ce processus. Plusieurs protéines interviennent dans ce transport du cholestérol; la plus importante et étudiée, étant la protéine **StAR** (Steroidogenic Acute Regulatory protein) (Clark *et al.* 1994).

La transformation du cholestérol en testostérone nécessite cinq étapes (Figure 8). La première étape de la biosynthèse des androgènes est une étape clef, permettant la conversion du cholestérol en prégnénolone. Cette étape est assurée par le **cytochrome P450_{sc}** (ou Cyp11a1), situé dans la membrane interne de la mitochondrie, induisant la coupure de la chaîne latérale du cholestérol. Cette enzyme est retrouvée uniquement dans les tissus stéroïdogéniques classiques (ovaire, surrénales et placenta) et exclusivement au niveau des cellules de Leydig dans le testicule (O'Shaughnessy and Murphy 1991). La prégnénolone est ensuite transportée dans le réticulum endoplasmique lisse où elle est convertie en progestérone par la **3 β -hydroxystéroïde déshydrogénase** (3 β -HSD, ou Hsd3b1). Cette enzyme est également responsable de la conversion des Δ^5 -3 β -hydroxystéroïdes en Δ^4 -3-kétostéroïdes, étape essentielle dans la biosynthèse des hormones stéroïdes biologiquement actives. Le **cytochrome P450_{c17}** (ou Cyp17a1) va ensuite transformer successivement la progestérone en 17 α -OH-progestérone (activité

17 α -hydroxylase) puis en androstènedione (activité C17-20-lyase). Enfin l' androstènedione est convertie en testostérone par la **17 β -hydroxystéroïde déshydrogénase** (17 β -HSD, ou Hsd17b3).

Cette voie de biosynthèse Δ^4 (prégnénone \rightarrow progestérone \rightarrow androstènedione \rightarrow testostérone) fut la première identifiée chez le rat (Slaunwhite and Samuels 1956) et elle est considérée comme la voie préférentielle chez cette espèce (Bell *et al.* 1968). On peut noter qu'il existe une voie parallèle (Δ^5), prédominante chez l'homme (Hammar and Petersson 1986), conduisant à la formation d'un intermédiaire, la déhydroépiandostérone (DHEA) à partir de la prégnénone. L'importance relative de ces deux voies varie en fonction de l'espèce et du statut hormonal du mâle.

Dans la plupart des espèces, la testostérone est l'androgène majoritairement secrété par les cellules de Leydig. Ainsi, chez le rat, les testicules sont la source principale des androgènes circulant dans le sang, alors que chez l'homme, ils proviennent à la fois des testicules et du cortex surrénal. La DHEA et l'androstènedione, sécrétées par le cortex surrénal (Baird *et al.* 1969), sont des précurseurs à faible pouvoir androgénique et peuvent être convertis en testostérone au niveau de tissus extra-gonadiques. La testostérone ainsi produite par le cortex surrénal ne représente que 10 % de la quantité totale de testostérone circulante.

2.1.3 Métabolisme des androgènes

La testostérone et l'androstènedione peuvent être métabolisées de façon irréversible en œstrogènes (œstradiol) sous l'action d'une cytochrome **P450 aromatase** (P450arom), codée par le gène Cyp19 (Conley and Hinshelwood 2001) (Figure 8). Il a été montré que le testicule est responsable de 20 % de la production totale d'œstrogènes, la majeure partie étant produite au niveau des tissus périphériques (graisse, foie, reins, tissu osseux ou cerveau) (Payne and O'Shaughnessy 1996; Simpson 2000). Chez le rat, la P450arom est exprimée dans le testicule, non seulement au niveau des cellules de Leydig et de Sertoli mais également au niveau des cellules germinales (Levallet *et al.* 1998; Lambard *et al.* 2005) et les types cellulaires synthétisant l'œstradiol semblent dépendants de l'âge.

La testostérone peut également être métabolisée de façon irréversible en un dérivé plus actif, la dihydrotestostérone (DHT), par la **5 α -réductase** (isoformes 1 & 2) (Mahendroo and Russell 1999), enzyme membranaire microsomale, NADPH-dépendante (Figure 8). La

production de DHT est réalisée dans certains tissus possédant l'une ou l'autre des isoformes, ou les deux. Ces enzymes sont présentes en forte concentration dans les tissus reproducteurs mâles et le foie (Normington and Russell 1992). Chez le rat et l'homme, l'isoforme 2 est généralement plus abondante dans les tissus reproducteurs mâles et possède une forte affinité pour les stéroïdes, alors que l'isoforme 1, de faible affinité, est retrouvée préférentiellement exprimée dans les tissus périphériques.

Ces métabolites ont, tout comme la testostérone, diverses fonctions physiologiques au niveau de l'appareil reproducteur mâle.

2.1.4 Rôle de la testostérone et de ses dérivés

La **testostérone** est une hormone multi-fonctionnelle (Mainwaring *et al.* 1988). Elle agit par fixation aux récepteurs aux androgènes (AR) à différents niveaux. Elle peut agir localement au niveau du testicule, sur les cellules de Sertoli (action paracrine) afin de participer à la régulation de la spermatogenèse; elle permet la différenciation, la croissance et le fonctionnement des organes reproducteurs (action endocrine) ; elle est responsable des caractères sexuels secondaires masculins (pilosité, mue de la voix, musculature, pulsions sexuelles et comportement agressif); elle stimule l'érythropoïèse et elle joue un rôle essentiel au cours de l'embryogenèse. Elle peut également influencer sur la distribution des graisses, contrôler la fonction érectile et avoir des effets psychotropes. Elle exerce enfin sa propre régulation par un mécanisme de rétrocontrôle sur l'hypothalamus et l'adénohypophyse.

Les **œstrogènes** jouent un rôle important dans la reproduction et la fertilité (Akingbemi 2005). Comme d'autres hormones stéroïdes, les œstrogènes agissent via des récepteurs nucléaires (récepteurs aux œstrogènes, ER α et ER β) (Kuiper *et al.* 1997). Chez le rat mâle adulte, ces récepteurs sont exprimés au niveau des cellules de Leydig (ER α), de Sertoli (ER β) ainsi que dans les cellules germinales (ERs) (Pelletier *et al.* 2000). De nombreuses études ont montré le rôle des œstrogènes en tant que modulateurs des effets des gonadotrophines et de la testostérone au niveau des fonctions testiculaires (Carreau *et al.* 1999). Des modèles de souris Knock Out pour le gène ER α , ER β , ou les deux formes α et β (ERKO) (Lubahn *et al.* 1993; Eddy *et al.* 1996), ainsi que pour le gène P450arom (ArKo), ont également montré l'importance des œstrogènes sur la spermatogenèse et la fertilité (O'Donnell *et al.* 2001; Hess 2003). De plus, les œstrogènes sont impliqués dans le développement du système nerveux central, dans l'homéostasie du squelette et du système cardio-vasculaire. Ils sont nécessaires à la masculinisation du cerveau et impliqués dans le

comportement sexuel et ils ont également des effets sur le foie et le tissu adipeux (Simpson 2000).

La **dihydrotestostérone** (DHT) et la testostérone agissent par fixation au même récepteur (AR) mais participent à différentes fonctions physiologiques. Ceci est probablement dû au fait que la DHT possède une affinité beaucoup plus importante pour le AR que la testostérone. Le complexe DHT-AR semble être plus stable, plus rapidement transporté jusqu'au noyau, et capable d'induire une réponse plus efficace que ne le fait la testostérone (Zhou *et al.* 1995). La DHT est impliquée dans le développement des organes génitaux externes lors de l'embryogenèse, ainsi que dans la pilosité et la croissance prostatique. L'isoforme 2 de la 5 α -réductase semble jouer un rôle plus important que l'isoforme 1. Ainsi l'inactivation de la 5 α -réductase de type 2 par mutation a pour conséquence des phénomènes de pseudohermaphrodisme masculin, une virilisation altérée et un développement anormal de la prostate et des vésicules séminales, (Wilson *et al.* 1993), alors que l'inactivation de la 5 α -réductase de type 1 chez des souris mâles n'induit aucun effet au niveau de leur fertilité (Mahendroo and Russell 1999).

2.1.5 Mécanisme d'action des androgènes

Une fois synthétisées, les hormones stéroïdes sont transportées dans le sang jusqu'aux différents organes cibles. Peu solubles, la majorité des hormones stéroïdes sont liées à des protéines plasmiques telles que la Sex Hormone Binding Globuline (SHBG) et l'albumine. Seulement 2 à 3 % de la testostérone circulant dans le serum se retrouve sous forme libre.

Étant un stéroïde, la testostérone pénètre dans les cellules cibles par diffusion à travers les membranes cellulaires. Comme nous l'avons vu à l'intérieur de certaines cellules cibles, la testostérone peut se transformer en DHT. Les effets des androgènes sont exercés par le biais d'un récepteur nucléaire qui, après liaison de la testostérone ou de DHT, se fixe sur des séquences d'ADN spécifiques situées en amont de gènes cibles, et active (ou réprime) la transcription de ces gènes.

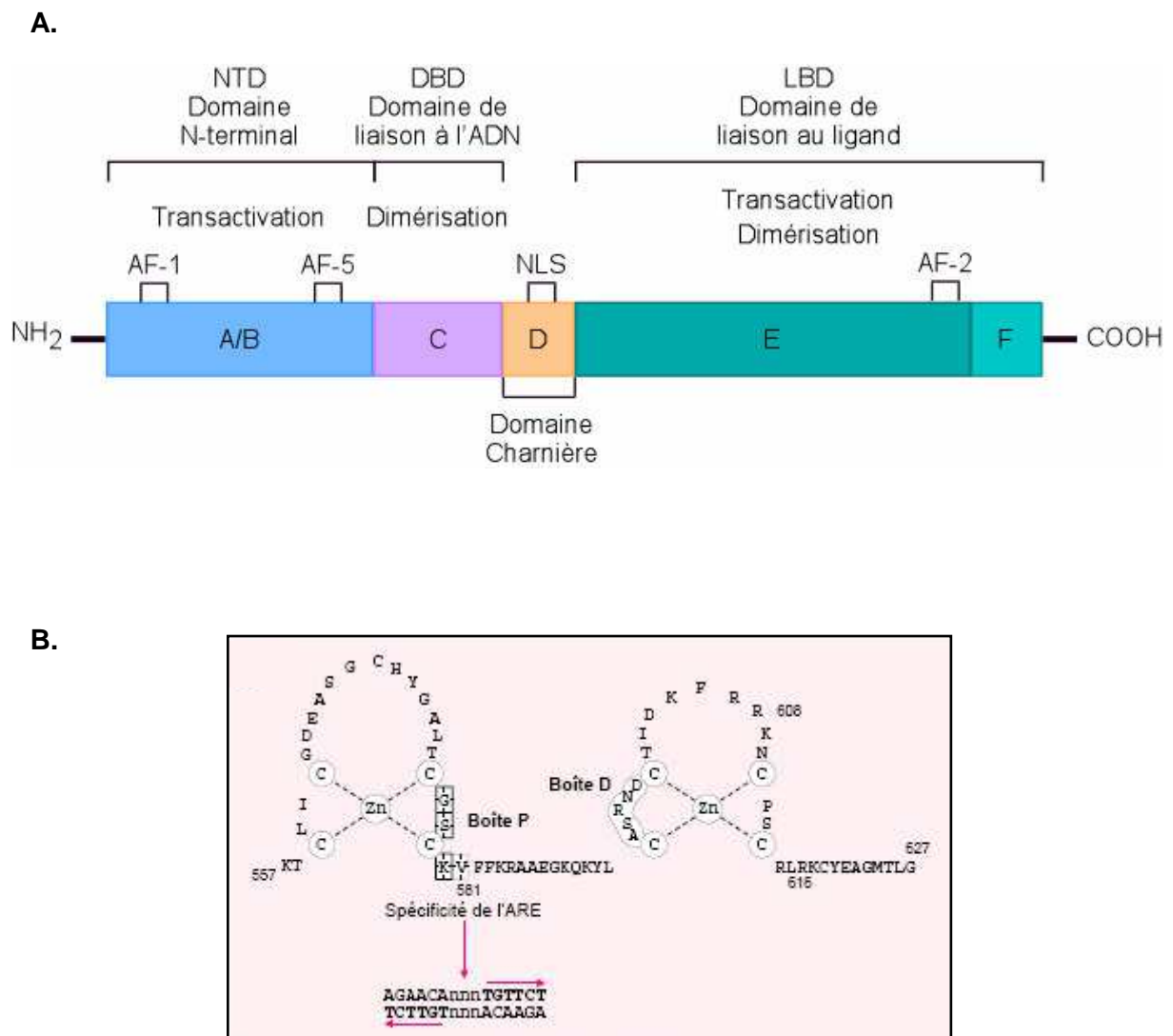


Figure 9 : Récepteur aux androgènes

A. Représentation schématique du AR

B. Structure en « doigt de zinc » du domaine de liaison à l'ADN (DBD). La boîte P est impliquée dans la liaison à l'ADN et la boîte D est impliquée dans le phénomène de dimérisation du récepteur.

2.1.5.1 Le récepteur aux androgènes

Le récepteur aux androgènes (AR) fut cloné et localisé à la fin des années 1980 (Chang and Kokontis 1988; Lubahn *et al.* 1988). C'est un récepteur nucléaire ligand inductible de 110 kDa, responsable de la régulation de gènes cibles en se liant à des éléments de réponse spécifiques, élément de réponse aux androgènes (ARE), en réponse à un ligand spécifique. Des mutations du AR, modifiant sa capacité de liaison aux androgènes ou son activité transcriptionnelle, peuvent aboutir à une infertilité masculine ainsi qu'à une insensibilité partielle ou complète, aux androgènes (Quigley *et al.* 1995; Gottlieb *et al.* 2001).

Le AR est codé par un gène localisé sur le chromosome X, en position q11-q12. Chez l'homme plusieurs isoformes d'ARNm ont été décrites. Le AR est largement distribué dans l'organisme (Quigley *et al.* 1995) et il est exprimé en grande quantité dans les organes sexuels (testicules, prostate, vésicules séminales, épидидyme). Le promoteur du AR contient des éléments de réponse à plusieurs molécules, comme le CRE (Elément de réponse à l'AMPC), et des éléments de réponse à SRY, SF-1, ER, NF- κ B (nuclear factor κ B), et au AR lui-même, permettant ainsi une boucle d'autorégulation.

Dans cette superfamille de récepteurs nucléaires, on retrouve les récepteurs aux œstrogènes (ER), à la progestérone (PR), aux glucocorticoïdes (GR), aux minéralocorticoïdes (MR), récepteurs de type 1 ; les récepteurs aux rétinoïdes (RAR & RXR), aux hormones thyroïdiennes (TR), à la vitamine D3 (VDR) et activant la prolifération des péroxisomes (PPAR), récepteurs de type 2 ; et enfin les récepteurs orphelins, récepteurs pour lesquels aucun ligand n'a été décrit, récepteurs de type 3.

Le AR présente une structure commune aux autres membres de la famille des récepteurs nucléaires et peut être subdivisé en 4 domaines fonctionnels notés de A à F représentés Figure 9 (Poujol and Sultan 2000; Heinlein and Chang 2002a):

- le **domaine N-terminale** (NTD), est le plus variable entre les différents récepteurs nucléaires en terme de taille et de séquence. Il possède deux régions nécessaires à l'activation de la transcription (transactivation) (Jenster *et al.* 1991). Le domaine AF-1 possède un fort pouvoir activateur, indépendamment de la fixation du ligand (Jenster *et al.* 1995).
- le **domaine de liaison à l'ADN** (DBD), très conservé, il présente 2 boucles, possédant à leur base 4 résidus cystéine liés par un ion zinc, appelé motif en « doigt de zinc ». Un de ces motifs est capable de reconnaître des séquences d'ADN consensus correspondant aux éléments de réponse aux hormones (HRE), l'autre permettant la dimérisation du récepteur.

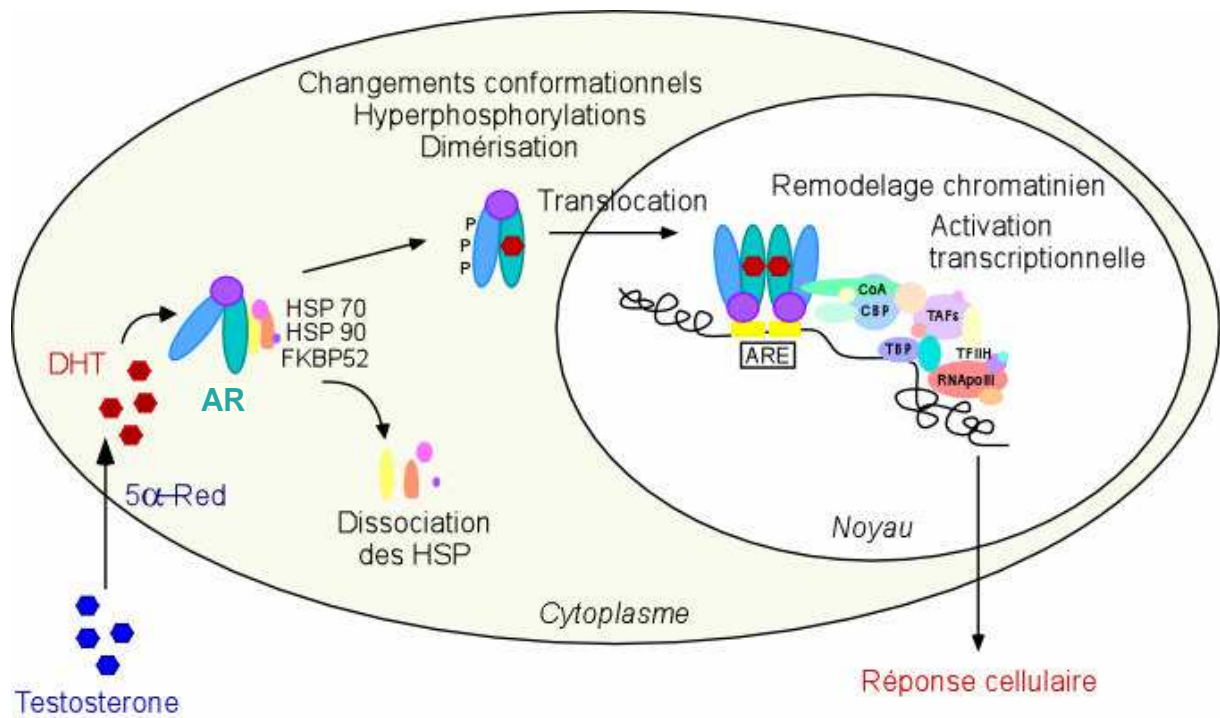


Figure 10 : Mécanisme d' action du récepteur aux androgènes

D' après Poujol et Sultan, 2000.

AR (Récepteurs aux Androgènes), DHT (Dihydrotestostérone), HSP (Protéine de choc thermique), ARE (Elément de Responsive aux Androgènes), CBP (Protéine de liaison au CREB), TAFs (Facteurs associés au TBP; TBP: Protéine de liaison à TATA), TFIID (Facteur de transcription)

- le **domaine charnière**, très flexible, contribue à la spécificité et à la polarité de la fixation du récepteur à l'ADN. Il a pour rôle principal d'induire un changement conformationnel du récepteur après fixation des androgènes. De plus, il possède une région permettant au récepteur de rester localisé dans le compartiment nucléaire (NLS1 pour *Nuclear Localization Signal*) (Zhou *et al.* 1994).
- le **domaine de liaison au ligand** (LBD) est un domaine multifonctionnel. Possédant une grande affinité pour les androgènes, il permet leur fixation au récepteur. Ce domaine peut également interagir avec des protéines de choc thermique (HSP pour *Heat Shock Protein*) (Fang *et al.* 1996), permettant le maintien du récepteur dans une conformation stable et réprimant sa transactivation. Cette région contient également un domaine d'activation transcriptionnelle dépendante de la liaison du ligand (AF-2) (He *et al.* 1999), une surface impliquée dans la dimérisation du récepteur et un signal de localisation nucléaire hormono-dépendant (NLS2).

2.1.5.2 Mécanisme d'action

En l'absence d'hormone le AR est localisé dans le cytoplasme et forme un complexe stable avec les protéines de choc thermique (HSPs) fixées au domaine LBD (Figure 10). De nombreuses protéines de cet hétérocomplexe ont déjà été identifiées, telles que Hsp90, Hsp70 et Fkbp52 (Veldscholte *et al.* 1992). Hsp90 et Hsp70 interagissent directement avec le LBD du AR alors que Fkbp52 se lie à Hsp90. Ces HSPs permettent le maintien du AR dans une conformation apte à lier l'hormone.

L'ancrage du ligand au AR entraîne une série de modifications :

- Dissociation des HSPs du AR, permettant le démasque du LBD, des sites de dimérisation et du signal de localisation nucléaire.
- Acquisition d'une structure plus compacte du récepteur, avec le rapprochement entre le NTD et le LBD. Ceci serait facilité par plusieurs coactivateurs et permettrait de stabiliser la liaison de l'hormone au récepteur (Ikonen *et al.* 1997).
- Hyperphosphorylation du récepteur (Kuiper and Brinkmann 1995) dont le rôle n'est pas encore clairement défini.

Le complexe AR-hormone est ensuite transféré vers le noyau. Ce transport est sélectif, actif et nécessite un ou plusieurs NLS. La première étape consiste en la liaison du complexe aux pores nucléaires, étape indépendante de l'énergie contrairement à la deuxième étape permettant la translocation du complexe à travers les pores nucléaires. Deux protéines, les importines (ou karyophérines) α et β sont nécessaires à cette étape (Gorlich 1998).

L'effet hormonal nécessite la liaison du complexe AR-hormone à de courtes séquences d'ADN, les AREs. L'ARE est constitué de 2 demi-sites hexanucléotidiques palindromiques, séparés par 3 nucléotides (IR3). Cette séquence est généralement localisée dans les régions promotrices des gènes cibles (Claessens *et al.* 2001; Shaffer *et al.* 2004). Elle fut initialement identifiée comme GG(A/T)ACAnnnTGTTCT (Roche *et al.* 1992), mais d'autres séquences fonctionnelles semblent aujourd'hui être envisageables. Il est admis que les ARs se lient à l'ADN sous forme d'homodimères, chaque monomère se liant à un demi-site de l'ARE par le biais d'un de ces 2 motifs en « doigt de zinc » présent au niveau du DBD.

Il est établi que l'activité transcriptionnelle du AR, comme celle des autres membres de la super famille des récepteurs nucléaires, est modulée par des protéines corégulatrices. Ainsi, au niveau du compartiment nucléaire, le AR recrute diverses protéines pour former un complexe multi-protéique. Ces corégulateurs vont permettre d'activer (coactivateurs) ou réprimer (corépresseurs) la transcription de gènes cibles (Glass and Rosenfeld 2000; Heinlein and Chang 2002a). Les ARs sont ainsi capables d'interagir directement avec des coactivateurs, permettant un remodelage de la chromatine des gènes cibles, puis avec la machinerie transcriptionnelle, autorisant l'activation de la transcription de ces gènes cibles.

Il a été montré que l'activité transcriptionnelle du AR peut aussi être modulée par diverses voies de signalisation cellulaire, y compris en l'absence d'hormone. Parmi ces modulateurs, on peut citer le facteur de transcription AP-1, constitué principalement des proto-oncogènes c-Jun et c-Fos (Bubulya *et al.* 1996) et les facteurs de croissance, IGF-1 (Insulin Growth Factor), EGF (Epidermal Growth Factor) ou KGF (Keratinocyte Growth Factor) dans des cellules prostatiques cancéreuses (Culig *et al.* 1994). Cette voie d'activation n'est pas encore bien comprise et reste à explorer.

Parallèlement à ce mode d'action, via les récepteurs nucléaires, il a été montré (Heinlein and Chang 2002b) que les androgènes pouvaient induire divers effets cellulaires en absence de AR fonctionnel ou en présence de corépresseurs du AR. Cette voie alternative ressemble aux voies de signalisation classique et semblerait permettre une activation plus

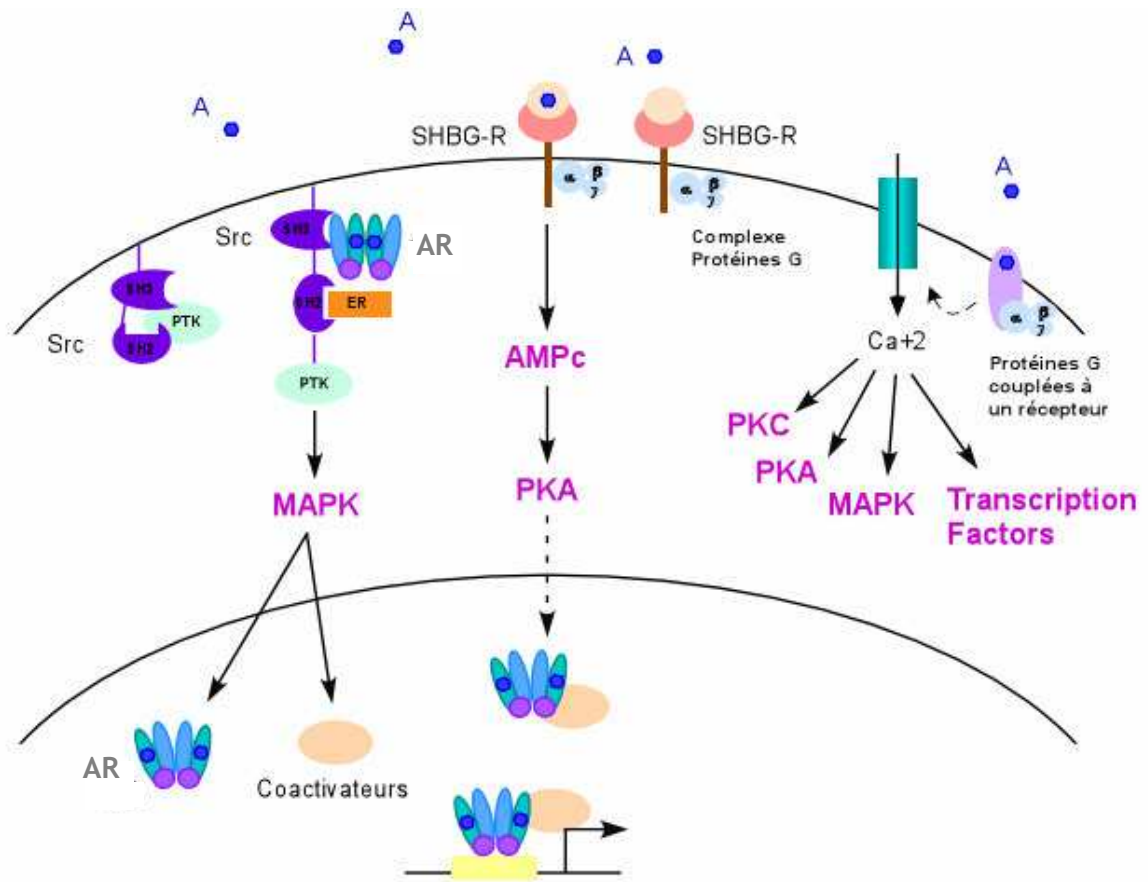


Figure 11 : Mécanisme d' action alternatif du récepteur aux androgènes

D' après Heinlein and Chang, 2002.

Androgène (A), Récepteur aux androgènes (AR), Mitogen-activated protein kinase (MAPK), Tyrosine kinase c-Src (Src), Sex hormone-binding globulin receptor (SHBG-R), Protéine kinase A (PKA), Protéine kinase C (PKC).

rapide de la transcription. Les hormones stéroïdes seraient capables d'activer divers seconds messagers (Figure 11). Ainsi les androgènes seraient capables de stimuler la voie des MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) en se complexant au AR et à la tyrosine kinase c-Src. Les androgènes peuvent également se lier au récepteur SHBG (SHBG-R) associé aux protéines G, et stimuler la production d'AMPc et les Protéines Kinases A (PKA). Ces deux mécanismes semblent réguler l'activation transcriptionnelle des ARs. De plus, les androgènes peuvent agir via des récepteurs couplés aux protéines G, permettant l'augmentation du niveau calcique intracellulaire et l'activation des voies PKC (Protein Kinase C), PKA et MAPK ainsi que la modulation de l'activité de facteur de transcription.

2.1.6 Catabolisme et élimination des androgènes

L'élimination des androgènes s'effectue principalement au niveau du foie. Une saturation de la molécule suivie par une conjugaison avec des sulfates ou des glucuronates les rend hydrosolubles et permet leur excrétion. La plupart des hormones sont détruites rapidement et la testostérone plasmatique semble avoir une demi vie de l'ordre de 10 à 100 minutes chez l'homme (Sandberg and Slaunwhite 1956; Dobs *et al.* 1998).

2.2 Le compartiment tubulaire et fonction exocrine

Les tubes séminifères sont de longues structures à l'intérieur des testicules, délimitées par une gaine tubulaire mince formée de la membrane basale, de fibroblastes, de fibres de collagène et de cellules myoïdes. La paroi des tubes séminifères est formée d'un épithélium stratifié, constitué à la fois de cellules germinales et de cellules somatiques, les cellules de Sertoli.

2.2.1 La spermatogenèse

La spermatogenèse est l'ensemble des phénomènes qui, des spermatogonies, cellules souches diploïdes ($2n$ chromosomes), aboutissent aux spermatozoïdes, gamètes masculins haploïdes (n chromosomes). La spermatogenèse a lieu dans les tubes séminifères. Chez les mammifères, la spermatogenèse comprend trois phases (Figure 12) :

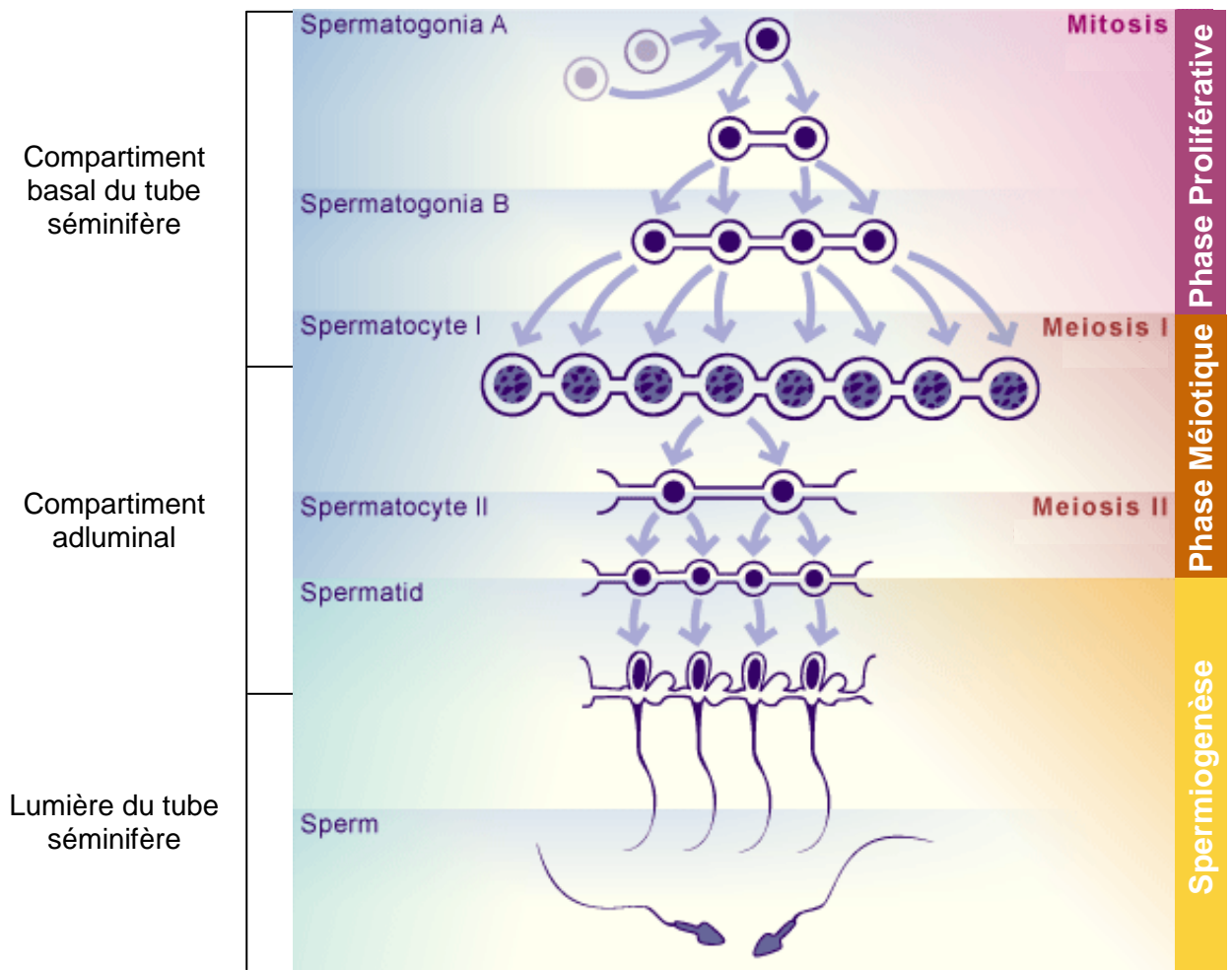


Figure 12: Diagramme schématique des phases de la spermatogenèse

- **La phase proliférative :**

Les spermatogonies, cellules embryonnaires sont localisées le long de la membrane basale du tube séminifère. Un certain nombre de spermatogonies (de type A) se divisent par mitose et contribuent ainsi au renouvellement continu de l'épithélium séminifère. Une partie de ces cellules cesse de se multiplier et se différencie en spermatogonies de type B. La division mitotique finale des spermatogonies de type B donne naissance aux spermatocytes primaires préleptotènes.

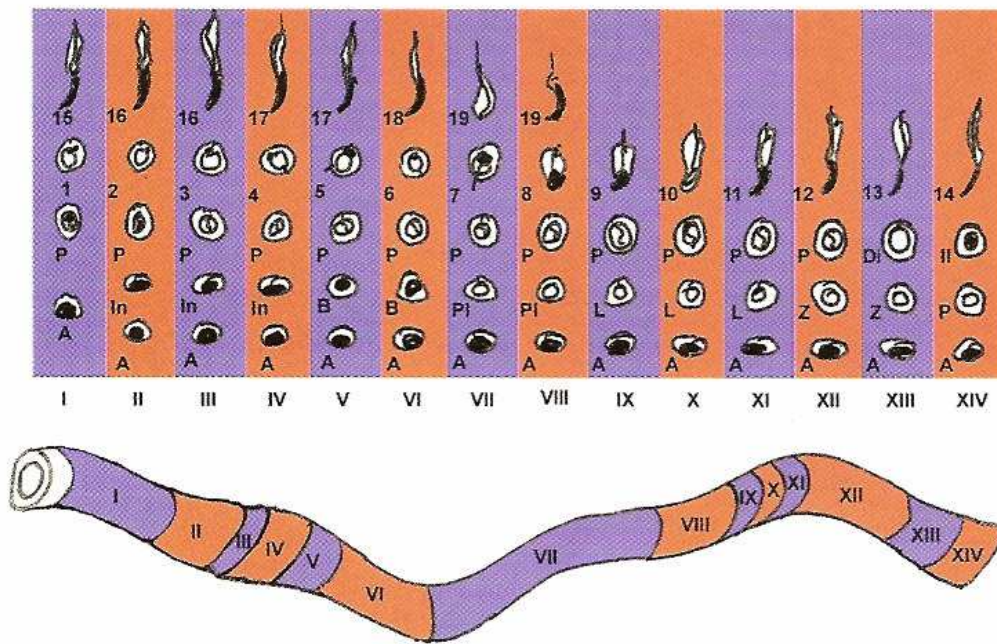
- **La phase méiotique :**

Le passage de $2n$ à n chromosomes se produit au cours de cette phase. Les spermatocytes primaires se divisent en spermatocytes secondaires, qui se différencient en spermatides haploïdes. La méiose est une succession de deux divisions cellulaires, consécutives. La première division méiotique, ou division réductionnelle, comporte une prophase I (qui se subdivise en 5 stades : leptotène, zygotène, pachytène, diplotène et diacinèse), une métaphase I, une anaphase I et une télophase I. La deuxième division méiotique, ou division équationnelle, a lieu après une intercinèse très brève, superposée à la prophase II, elle-même très rapide. A l'issue de la télophase II, on obtient deux cellules filles à n chromosomes.

- **La spermiogénèse :**

Les spermatides rondes immatures vont ensuite se différencier en spermatozoïdes. Ce processus implique plusieurs changements morphologiques comme la formation d'un flagelle qui permet la mobilité, l'élimination de l'"excès" de cytoplasme des spermatides, la réorganisation des organites cytoplasmiques tels que la condensation du noyau qui va occuper la tête du spermatozoïde, le rassemblement des vésicules de l'appareil de Golgi pour former l'acrosome qui contient des enzymes protéolytiques nécessaires aux spermatozoïdes lors de l'interaction avec l'ovocyte, et le regroupement des mitochondries au niveau de la pièce intermédiaire. Au cours de ce processus la tête des spermatides fait face au compartiment basal de l'épithélium séminifère. La dernière étape consiste à la translocation des spermatides de la surface adluminale de l'épithélium dans lumière du tube, c'est la spermiation.

A.



B.

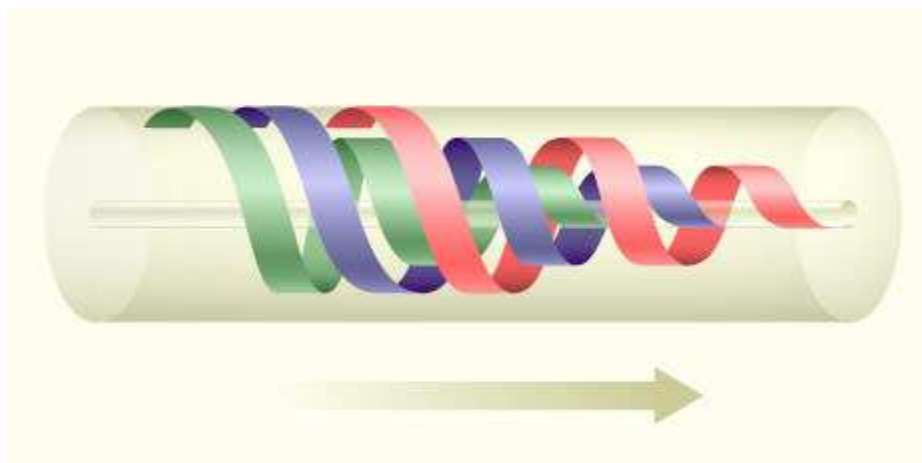


Figure 13 : Les cycles spermatogéniques

A. Classification des stades différents stades de la spermatogénèse chez le rat.

Spermatogonies (A, In, B) ; spermatocytes (PI, préleptotène ; L, leptotène ; Z, zygotène ; P, pachytène ; Di, diplotène) ; spermatocyte, II ; spermatoïdes (1 à 19).

Selon Leblond et Clermont, 1952.

B. Représentation de trois vagues successives de générations de spermatogénèse.

En périphérie du tubule et au début de la spirale, se trouvent les spermatogonies, à la fin de la spirale, les spermatozoïdes, libérés dans la lumière tubulaire. Cette illustration permet de comprendre pourquoi on rencontre toujours plusieurs générations de cellules sur une section de tube.

Chez les mammifères, la spermatogenèse est divisée en plusieurs stades : 12 chez la souris (Oakberg 1956), 14 chez le rat (Leblond and Clermont 1952) (Figure 13 A). Ces stades se déroulent de façon séquentielle le long de l'axe longitudinal du tube séminifère. La durée d'un cycle spermatogénique est également variable en fonction de l'espèce, elle est de 49 jours chez le rat (Clermont 1972). Ces cycles spermatogéniques sont répétés, formant des « vagues » successives (Figure 13 B).

Lors de l'observation d'une section transversale d'un tube séminifère, on remarque que les cellules d'un même stade apparaissent en groupes (clones). Toutefois tous les stades de la spermatogenèse ne sont pas représentés sur une section d'un tube séminifère. Ceci est lié au fait qu'à chaque division cellulaire d'une spermatogonie B, les cellules filles restent reliées par des ponts cytoplasmiques alors que leur nombre à la génération suivante sera doublé. Les dérivés d'une spermatogonie B forment ainsi à terme un grand syncytium avec des groupes cellulaires au même stade de développement. Ainsi, plusieurs générations de spermatogenèse sont enroulées en spirale les unes sur les autres, avec les cellules se dirigeant vers l'intérieur de la lumière (Schulze and Rehder 1984). En périphérie du tubule et au début de la spirale, se trouvent les spermatogonies, à la fin de la spirale, les spermatozoïdes, libérés dans la lumière tubulaire. Ceci permet de comprendre pourquoi on rencontre toujours des groupes de cellules de différentes générations sur une section de tube séminifère.

Il a été établi qu'un phénomène de dégénérescence des cellules germinales s'effectuait lors de la spermatogenèse. Ce phénomène limiterait le nombre de cellules germinales en développement, régulant ainsi le nombre de spermatozoïdes produits. De plus cette dégénérescence permettrait de prévenir la formation de cellules germinales anormales lors de la spermatogenèse.

2.2.2 Les cellules de Sertoli

Les cellules de Sertoli ont une morphologie très irrégulière. Ce sont des cellules épithéliales qui s'étendent depuis la membrane basale jusqu'à la lumière du tube. Elles occupent approximativement 17 à 19 % du volume de l'épithélium séminifère (Russell *et al.* 1990) et l'on en dénombre environ 40×10^6 par testicule chez le rat adulte (Russell 1993). Grâce à de nombreux prolongements cytoplasmiques, elles ensèrent les cellules germinales en développement. Les cellules de Sertoli sont caractérisées par la forme triangulaire de leur noyau contenant un gros nucléole (Russell 1993). Leur structure (Figure 14) est modifiée suivant les phases de la spermatogenèse, permettant de rester toujours en contact étroit avec les cellules germinales.

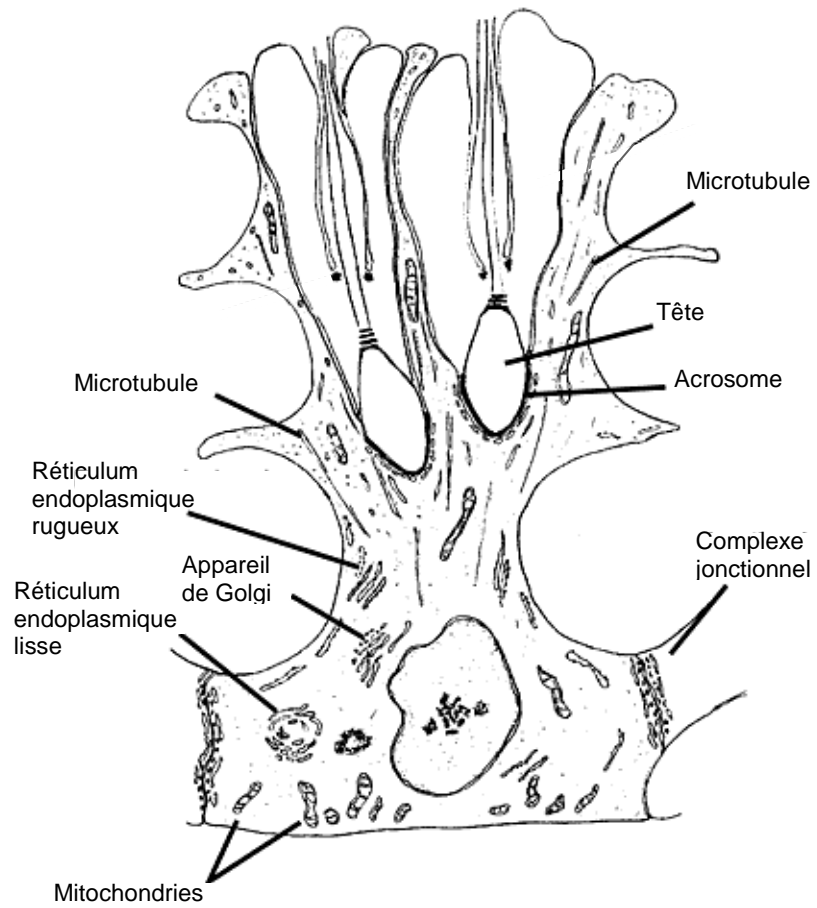


Figure 14 : Schéma d' une cellule de Sertoli

Les fonctions majeures des cellules de Sertoli sont les suivantes (Mruk and Cheng 2004) :

- **Rôle structural.** Les cellules de Sertoli enveloppent les cellules germinales et constituent un support physique, type « échafaudage », permettant le maintien des cellules germinales dans le compartiment adluminal.
- **Phagocytose et pinocytose.** Ces cellules jouent un rôle important dans la phagocytose et l'élimination des cellules germinales en dégradation au cours de la spermatogenèse et des corps résiduels issus des spermatozoïdes lors de la spermiation. De plus, elles sont capables de pinocytose ou d'endocytose au niveau apical. Les lysosomes ainsi formés peuvent fusionner avec des phagosomes, permettant l'élimination du fluide des tubes séminifères.
- **Barrière hémato-testiculaire.** Les cellules de Sertoli sont reliées entre elles par des jonctions serrées qui établissent la barrière hémato-testiculaire, séparant l'épithélium séminifère en un compartiment basal contenant les spermatogonies et les spermatocytes jusqu'au stade préleptotène, et un compartiment adluminal où se situent les cellules germinales post-leptotènes. A l'extérieur de cette barrière, dans le compartiment basal, les éléments et les hormones du sang ont un accès libre aux cellules germinales. La barrière est perméable sélectivement et contrôle l'accès des substances dans le compartiment adluminal du tube. Les substances provenant des espaces interstitiels passent donc obligatoirement par le cytoplasme des cellules de Sertoli qui joue le rôle d'un véritable filtre sélectif. Au cours de leur maturation, les cellules germinales traversent cette barrière, pénétrant dans le compartiment adluminal afin d'y subir la méiose au sein d'un milieu cellulaire étroitement contrôlé et immunologiquement privilégié.
- **Mouvement des cellules germinales et Spermiation.** Les cellules de Sertoli jouent un rôle dans le mouvement des cellules germinales en développement ainsi qu'au niveau du relargage des spermatozoïdes matures de l'épithélium séminifère dans la lumière du tube (spermiation). Ce phénomène complexe comprend l'encapsulation des spermatozoïdes individuellement par des processus cytoplasmiques, l'expulsion des spermatozoïdes allongés des cryptes Sertoliennes dans la lumière du tube, le relargage des têtes de spermatozoïdes de la région apicale des cellules de Sertoli, ainsi que le détachement, la rétention et la phagocytose des cytoplasmes résiduels des spermatozoïdes.

- **Sécrétion de protéines et d' autres produits** Il est aujourd' hui bien établi que les cellules de Sertoli secrètent de façon massive diverses protéines, ions et autres substances aussi bien au niveau apical que basal (Griswold 1993). Les glycoprotéines représentent une grande proportion (15 %) de leur synthèse protéique. L' ABP (Androgen Binding Protein) fut la première à être caractérisée (Hagenas *et al.* 1975). La transferrine est également un des produits majoritairement sécrété par les cellules de Sertoli. Cette protéine assure le transport d' ions ferriques de la surface basale vers les spermatozoïdes et spermatides (Skinner and Griswold 1980). Les protéines sécrétées par les cellules de Sertoli peuvent être regroupées en 4 grandes classes. Les protéines de transport et de liaison (ABP, transferrine, SGP1, SGP2 (sulfated glycoprotein 1&2)); les protéases et inhibiteurs de protéases, jouant un rôle dans les processus de remodelage tissulaire au cours de la spermiation par exemple; les composants de la membrane basale; et les facteurs de croissance et autres facteurs de régulation cellulaire incluant le MIS (Müllerian inhibiting substance) et l' inhibine. Les cellules de Sertoli assurent donc les apports nutritionnels et énergétiques (glucose) nécessaires aux cellules germinales ainsi que la synthèse et la sécrétion de facteurs de croissance qui contrôlent la spermatogenèse.
- **Sécrétion du liquide séminal primitif.** Le fluide sécrété par les cellules de Sertoli joue un rôle important dans la distribution des nutriments aux cellules germinales, dans le relargage des spermatozoïdes et dans le transport de facteurs régulateurs impliqués dans la communication entre les deux parties du tube séminifère. Ce liquide va également jouer un rôle dans le transport des spermatozoïdes du tube séminifère vers le rete testis, les canaux efférents et l' épидидyme.

Ainsi, les cellules de Sertoli n'ont pas seulement une fonction de soutien et de nutrition, pour les cellules germinales. Elles forment une barrière hémato-testiculaire et contrôlent le transport cellulaire de la membrane basale vers la lumière du tube. Elles permettent également une transmission des stimulations hormonales aux cellules germinales et la libération des spermatozoïdes depuis l' épithélium germinifère dans la lumière. Les cellules de Sertoli jouent donc un rôle crucial dans le développement des cellules germinales et dans le bon déroulement et la régulation de la spermatogenèse.

2.2.3 Les jonctions intercellulaires spécialisées

Les cellules sont en contact entre elles et avec la matrice par l'intermédiaire de jonctions spécialisées. Ces jonctions permettent aux cellules de communiquer entre elles et avec leur environnement. Elles peuvent être de trois types morphologiques et fonctionnels (Cheng and Mruk 2002; Mruk and Cheng 2004):

- Les jonctions serrées
- Les jonctions adhérentes
- Les jonctions d'échanges

Dans le testis, les jonctions serrées sont créées par le contact de deux cellules de Sertoli à proximité de la membrane basale, séparant l'épithélium séminifère en compartiment basal et en compartiment adluminal. Cette jonction constitue la barrière hémato-testiculaire, créant un microenvironnement nécessaire au développement des cellules germinales.

Les jonctions d'échange (jonctions gap) s'établissent entre les cellules de Sertoli elles-mêmes et entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales. Elles permettent l'échange d'ions et de petites molécules entre deux cellules adjacentes.

Concernant les jonctions adhérentes, il en existe de plusieurs types, qui se distinguent par leur mode d'attachement. Les jonctions adhérentes et d'adhésion focale utilisent des filaments d'actine au niveau de leur site d'attachement alors que les desmosomes et hémidesmosomes utilisent des filaments intermédiaires. Au niveau du testicule, on retrouve également deux types de jonctions adhérentes modifiées, appelées spécialisation ectoplasmique (ES) et complexe tubulobulbaire. L'ES est une jonction qui s'établit entre les cellules germinales en développement et les cellules de Sertoli (Russell 1977). De récentes études ont montré qu'il existe deux types d'ES, désignées par basale et apicale. Ces jonctions sont importantes pour les étapes de la spermiogenèse (ES apicale) et probablement dans la stabilisation d'autres jonctions telles que les jonctions serrées (ES basale). Le complexe tubulobulbaire se retrouve entre les cellules de Sertoli au niveau des jonctions serrées mais également entre les cellules de Sertoli et les spermatozoïdes matures prêts à être libérés dans la lumière du tube séminifère.

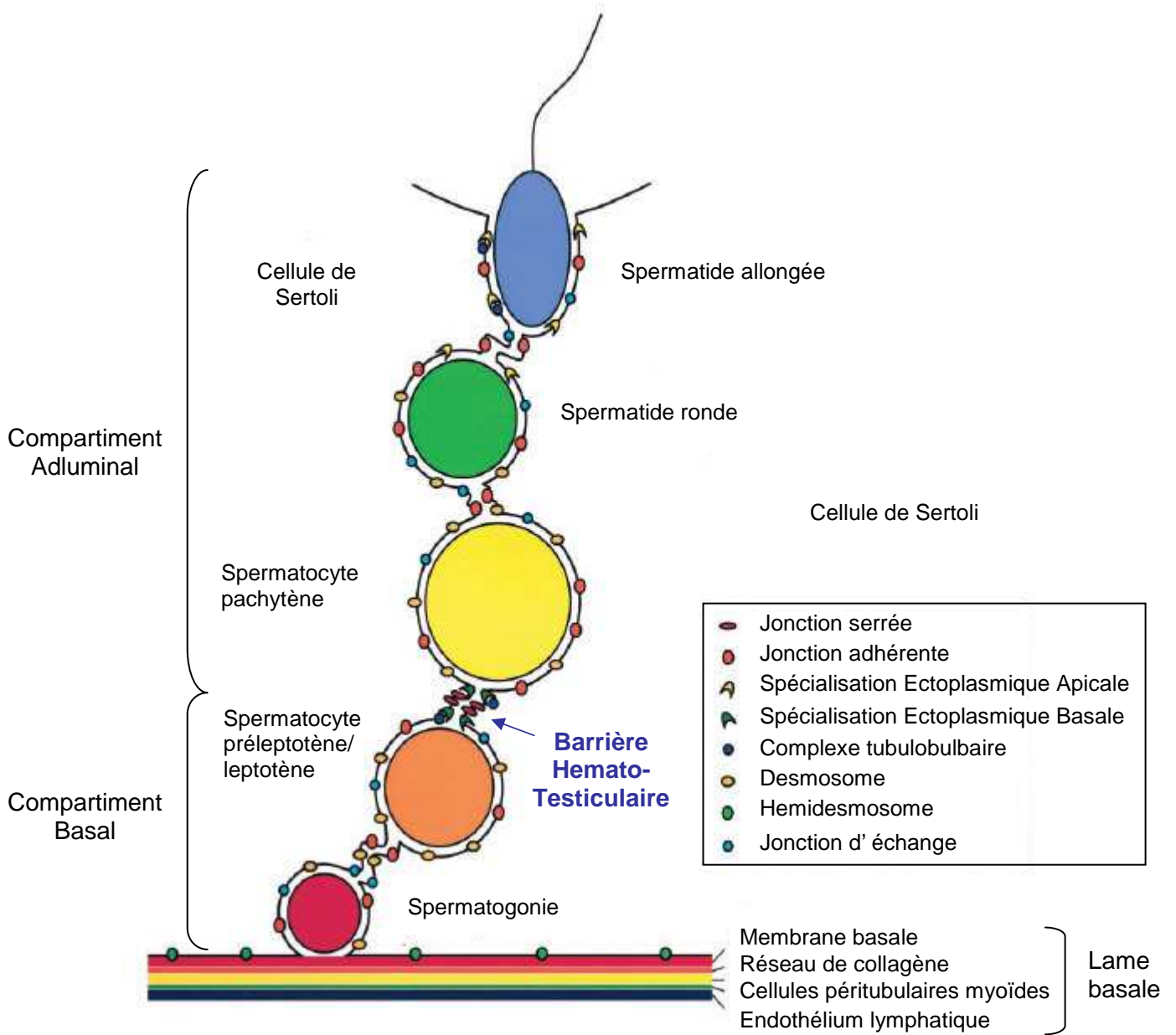


Figure 15: Représentation des différentes jonctions spécialisées de l'épithélium séminifère

D'après Mruk et Cheng, 2004

Des nombreuses interactions s'établissent donc entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales. Des événements de dissociation et d'association des jonctions serrées et adhérentes entre les cellules de Sertoli, et des jonctions adhérentes entre les cellules de Sertoli et cellules germinales se succèdent, permettant le mouvement des cellules germinales en développement le long de l'épithélium séminifère.

La figure 15 représente ces différentes jonctions spécialisées au niveau de l'épithélium séminifère.

CHAPITRE III - Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires

Le testicule assure deux fonctions chez l'adulte : la production de sperme et la synthèse d'androgènes. Ces fonctions gonadiques sont contrôlées par la structure hypothalamo-hypophysaire.

1. Régulation des fonctions gonadiques

1.1 Action des gonadotrophines

La structure hypothalamus-adénohypophyse agit en deux temps. La **GnRH**, sécrétée de manière pulsatile par les neurones sécréteurs de l'hypothalamus, stimule les cellules endocrines de l'adénohypophyse qui répondent à cette stimulation en libérant les gonadotrophines hypophysaires, la **FSH** et la **LH** (McLachlan 2000). Au niveau du testicule, la LH agit sur les cellules de Leydig pour induire la synthèse de testostérone, alors que la FSH a pour cible les cellules de Sertoli et les cellules germinales et stimule la spermatogenèse.

Des mutations dans les gènes codant pour les gonadotrophines et leurs récepteurs ont été décrites chez l'homme (Amory and Bremner 2001). Ces mutations ont permis de mettre en évidence les rôles des gonadotrophines et de leurs récepteurs dans le développement et le fonctionnement de l'appareil reproducteur mâle.

Les gonadotrophines agissent au niveau de leurs cellules cibles par des récepteurs membranaires. Ces récepteurs appartiennent à la grande famille des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G (Simoni *et al.* 1997; Ascoli *et al.* 2002). La liaison de l'hormone sur son récepteur active l'adénylate cyclase, conduisant à une augmentation de l'AMPc intracellulaire. L'AMPc se lie à la PKA, active cette dernière qui à son tour phosphoryle de nombreuses protéines comme les facteurs de transcription CREB (cAMP Responsive Element Binding Protein) et CREM (cAMP Responsive Element Modulator). L'activation de ces deux protéines permet leur liaison à l'élément de réponse CRE au niveau du promoteur des gènes cibles, ainsi que le recrutement du complexe de transcription, permettant la modulation de la transcription des gènes cibles (West *et al.* 1994).

1.2 Rétrocontrôle des gonadotrophines

La sécrétion de LH et de FSH par l'adénohypophyse est régulée par des signaux hormonaux du système nerveux central (GnRH) et du système gonadique (testostérone et œstradiol), ainsi que par des facteurs gonadiques non stéroïdiens (inhibine, activine et follistatine)

1.2.1 Par les hormones gonadiques

Les hormones gonadiques (testostérone et œstradiol) peuvent moduler la sécrétion des gonadotrophines LH et FSH à la fois en diminuant la sécrétion de la GnRH par l'hypothalamus et en affectant la capacité de la GnRH à stimuler la sécrétion des gonadotrophines par l'adénohypophyse.

Ainsi la **testostérone**, sécrétée par les cellules de Leydig, est capable d'exercer un rétrocontrôle inhibiteur sur l'hypothalamus. Ce rétrocontrôle régule à la baisse la sécrétion hypothalamique de GnRH ce qui conduit à une réduction de la libération de FSH et LH (Matsumoto and Bremner 1984). De plus, la testostérone est capable d'inhiber directement la libération de LH par l'adénohypophyse (Sheckter *et al.* 1989).

L'**œstradiol**, forme aromatisée de la testostérone produite par les cellules de Leydig et de Sertoli, régule également la sécrétion et l'action de la GnRH. Elle agit au niveau de l'hypothalamus pour inhiber la sécrétion de GnRH et au niveau de l'adénohypophyse pour inhiber les réponses à la GnRH (Hayes *et al.* 2000).

1.2.2 Par les facteurs non stéroïdiens

Concernant la FSH, il existe une régulation additionnelle faisant intervenir des facteurs non stéroïdiens. Cette régulation met en oeuvre l'inhibine, l'activine et la follistatine.

L'inhibine et l'activine appartiennent à la superfamille des TGF- β (Transforming Growth Factor- β) et sont retrouvées sous plusieurs isoformes. Ces facteurs contrôlent et régulent de nombreux processus biologiques dont la sécrétion d'hormones hypophysaires et plus spécifiquement la sécrétion de FSH (Bilezikjian *et al.* 2004; de Kretser *et al.* 2004). L'**inhibine B** est l'isoforme majeure sécrétée chez le mâle. Elle est produite par la gonade mâle et plus spécifiquement par les cellules de Sertoli en réponse à la FSH. La synthèse d'inhibine B serait également dépendante du nombre de cellules de Sertoli présentes (Welt

et al. 2002). Les différentes isoformes **d'activine** sont quant à elles produites par de nombreux tissus et exercent un large spectre d'action. Elles ont toutes la capacité de stimuler la sécrétion de FSH au niveau de l'adénohypophyse. L'activine A semble être produite par les cellules de Sertoli, les cellules de Leydig et les cellules péricubulaires myoïdes, alors que l'activine B est retrouvée dans les cellules germinales (de Kretser *et al.* 2002). **La follistatine**, capable de moduler l'action de l'activine, est synthétisée par les cellules de Sertoli, les cellules germinales et les cellules pituitaires. Elle est capable de se lier à l'activine et d'inhiber ses effets. Ainsi la follistatine est capable d'inhiber la sécrétion de FSH par les cellules hypophysaires (de Kretser *et al.* 2002; Welt *et al.* 2002).

Il apparaît donc que l'inhibine exercerait son action majoritairement grâce à sa sécrétion par le testicule et son transport par la circulation périphérique, via une boucle complexe impliquant la modulation de la sécrétion de FSH, alors que les actions de l'activine et de la follistatine s'exerceraient surtout par voies paracrines et/ou autocrines au niveau de l'adénohypophyse, grâce à une production locale.

2. Régulation de la stéroïdogénèse

2.1 Par les hormones

L'observation de pathologies humaines ainsi que des études de mutations de la LH, de la FSH ou de leurs récepteurs, ont montré l'importance de ces gonadotrophines dans le processus stéroïdogénique.

Des mutations dans le gène codant pour le récepteur de la **LH** sont à l'origine de plusieurs pathologies chez l'homme. Des mutations inhibitrices ont été retrouvées chez l'homme et sont à l'origine d'une résistance testiculaire familiale et du pseudohermaphrodisme chez le mâle (hypoplasie des cellules de Leydig, niveau de LH élevé et de testostérone faible). Les patients porteurs d'une mutation activatrice constitutive du récepteur à la LH, déclarent quant à eux une puberté précoce. (Themmen and Huhtaniemi 2000). Des mutations inhibitrices d'une des sous unités β de la LH aboutissent à une absence de cellules de Leydig et à une azoospermie chez les adolescents phénotypiquement mâles (Weiss *et al.* 1992).

Il est intéressant de noter que, suite à la stimulation des cellules de Leydig par la LH, ces cellules deviennent réfractaires à toute autre stimulation par l'hormone. La sécrétion de LH étant sous le contrôle de pulses de GnRH, est elle-même de nature pulsée (Wu *et al.* 1987). Cette sécrétion pulsatile permet probablement d'éviter des épisodes réfractaires

prolongés des cellules de Leydig. De plus il a été montré qu'une stimulation continue de LH induit, chez le rat mâle adulte, une hypertrophie et hyperplasie des cellules de Leydig (Christensen and Peacock 1980).

La LH est capable de contrôler la production et la sécrétion de testostérone via son récepteur situé à la surface des cellules de Leydig (De Kretser *et al.* 1971). La sécrétion de LH, suite à un pulse de GnRH, induit donc la stimulation des cellules de Leydig et plus spécifiquement induit la transcription des gènes codant pour de nombreuses enzymes impliquées dans la biosynthèse de testostérone (Payne and O'Shaughnessy 1996). Ainsi, la liaison de la LH à son récepteur, stimule l'adénylate cyclase permettant la formation d'AMPc. Les concentrations en AMPc sembleraient réguler indirectement l'expression de la protéine StAR, protéine clef, indispensable à la première étape de la stéroïdogénèse.

Des mutations au niveau du gène codant pour la **FSH** sont également responsables de troubles de la stéroïdogénèse (Themmen and Huhtaniemi 2000). Etant donné que les cellules de Leydig ne possèdent pas de récepteur à la FSH, cette dernière agirait sur la régulation de la stéroïdogénèse de façon indirecte. Des études montrent que la FSH stimule les cellules de Sertoli à sécréter divers facteurs capables d'agir en synergie avec la LH sur l'activation des enzymes et protéines impliquées dans la stéroïdogénèse (Payne and O'Shaughnessy 1996).

De plus, de nombreuses études suggèrent que le testicule et plus spécifiquement les cellules de Leydig sont la cible des **œstrogènes**. Il a été montré que le testicule est capable de synthétiser des œstrogènes et que leurs récepteurs (ER) seraient présents dans les cellules de Leydig (Pelletier *et al.* 2000; Lambard *et al.* 2005). Il est supposé que les œstrogènes ont une influence inhibitrice sur la stéroïdogénèse des cellules de Leydig matures, de façon directe en inhibant certaines enzymes impliquées dans la voie de biosynthèse de la testostérone ou en limitant le développement et la prolifération des cellules de Leydig (Abney 1999). Cependant, les mécanismes d'action des œstrogènes sont à l'heure actuelle encore mal connus.

2.2 Par les facteurs non stéroïdiens

L'**inhibine** et l'**activine** semblent être impliquées dans la régulation de la stéroïdogénèse. Des études ont montré que l'inhibine stimulerait la production de testostérone par les cellules de Leydig, alors que l'activine inhiberait la production de testostérone par les cellules de Leydig *in vitro* (Hsueh *et al.* 1987; Lin *et al.* 1989).

La synthèse de testostérone peut également être régulée par de nombreux facteurs locaux comme les **cytokines** $TNF\alpha$ et $IL-1\beta$, sécrétées par les macrophages, ainsi que par d'autres **facteurs de croissance** tels que l'EGF, $TGF\beta 1$ l'IGF-1 et le FGF (Payne and O'Shaughnessy 1996). Ces facteurs régleraient la synthèse de testostérone à différents niveaux en modulant : la disponibilité en cholestérol, l'expression d'enzymes clefs de la stéroïdogenèse, l'expression du récepteur à la LH.

3. Régulation de la spermatogenèse

La spermatogenèse est un processus complexe et son bon déroulement est sous le contrôle des gonadotrophines hypophysaires (LH et FSH) (Walker and Cheng 2005) et de facteurs locaux.

3.1 Par les hormones

L'action de la **LH** sur la spermatogenèse est indirecte car elle passe par la stimulation de la production de testostérone par les cellules de Leydig. Dans le testicule, les cellules de Leydig, les cellules péricubulaires et les cellules de Sertoli expriment le AR (Bremner *et al.* 1994). Plusieurs études ont montré que les androgènes sont indispensables à la survie de cellules germinales. Une diminution du niveau de testostérone intratesticulaire a pour conséquence de perturber la spermatogenèse et d'altérer la production du sperme (McLachlan *et al.* 1994; O'Donnell *et al.* 1996). La testostérone semble agir principalement sur les étapes de différenciation des spermatogonies ainsi que sur la conversion des spermatides rondes en allongées. De plus, l'invalidation du gène codant pour le AR dans les cellules de Sertoli induit une apoptose des cellules germinales (De Gendt *et al.* 2004). La testostérone apparaît donc nécessaire à la régulation de la spermatogenèse et son action, tout comme celle de la FSH, semble passer par les cellules de Sertoli (Griswold 1998).

Dans le testicule, les récepteurs de la **FSH** sont localisés au niveau des cellules de Sertoli. La FSH stimule ces cellules à produire divers facteurs locaux tels que l'ABP et l'inhibine, qui jouent un rôle au niveau de la spermatogenèse. L'ABP, protéine possédant une grande affinité pour la testostérone et le DHT, permet le transport et la distribution des ces androgènes au niveau du testicule. La testostérone, synthétisée dans le compartiment interstitiel, peut ainsi être transportée de façon spécifique et agir au niveau des cellules germinales, capables de lier les complexes testostérone-ABP (Gerard 1995). Ainsi, il

apparaît que l'ABP est impliquée fortement dans le contrôle de la spermatogenèse (Joseph *et al.* 1997). Des expériences de mutations sur les sous unités de la FSH et de knock-out du récepteur à la FSH, montrent que la FSH a un rôle essentiel dans la spermatogenèse et plus spécifiquement au niveau du maintien de la taille testiculaire, du nombre de spermatozoïdes produits et de la fertilité (Sairam and Krishnamurthy 2001).

Ainsi, il est clair qu'une spermatogenèse normale nécessite à la fois de la testostérone et de la FSH, ces deux hormones pouvant agir de façon indépendante ou en synergie (Walker and Cheng 2005). Kerr et collaborateurs (Kerr *et al.* 1992) ont montré qu'après l'ablation de l'hypophyse et la suppression des cellules de Leydig, la FSH seule supporte partiellement la spermatogenèse jusqu'au développement des spermatides rondes et que l'administration de testostérone seule permet le maintien de tous les stades d'un cycle. Toutefois pour que la spermatogenèse soit normale, il semble que l'administration de testostérone et de la FSH soit nécessaire. D'autres études montrent que la FSH ou la testostérone induisent de façon indépendante la prolifération des cellules de Sertoli et le développement des cellules germinales (Allan *et al.* 2004), et que les jonctions cellules de Sertoli-cellules germinales sont sous le contrôle de la FSH (Muffly *et al.* 1994), alors que l'adhésion des spermatides rondes aux cellules de Sertoli nécessite la testostérone (O'Donnell *et al.* 1996).

La FSH seule semble donc être capable de stimuler la prolifération des cellules de Sertoli et les étapes précoces (mitose et méiose) du développement des cellules germinales, alors que la LH, et la testostérone, apparaissent être absolument nécessaires à l'initialisation d'un cycle complet de la spermatogenèse ainsi qu'au niveau des étapes finales (post méiotique) de la spermatogenèse. La FSH, la LH et la testostérone sont donc impliquées dans la régulation de la spermatogenèse et la fertilité. Cette régulation repose sur une interaction fine entre ces hormones.

De nombreuses études ont également permis de considérer les **œstrogènes** comme de nouveaux régulateurs locaux de la spermatogenèse (O'Donnell *et al.* 2001; Akingbemi 2005). Malgré le nombre important de données publiées sur les effets des œstrogènes sur la spermatogenèse, leur rôle exact est encore incertain.

3.2 Par les facteurs non stéroïdiens

De la même façon que pour la stéroïdogénèse, de nombreux facteurs locaux, sécrétés par les différents types cellulaires du testicule, sont impliqués dans la régulation de la spermatogenèse.

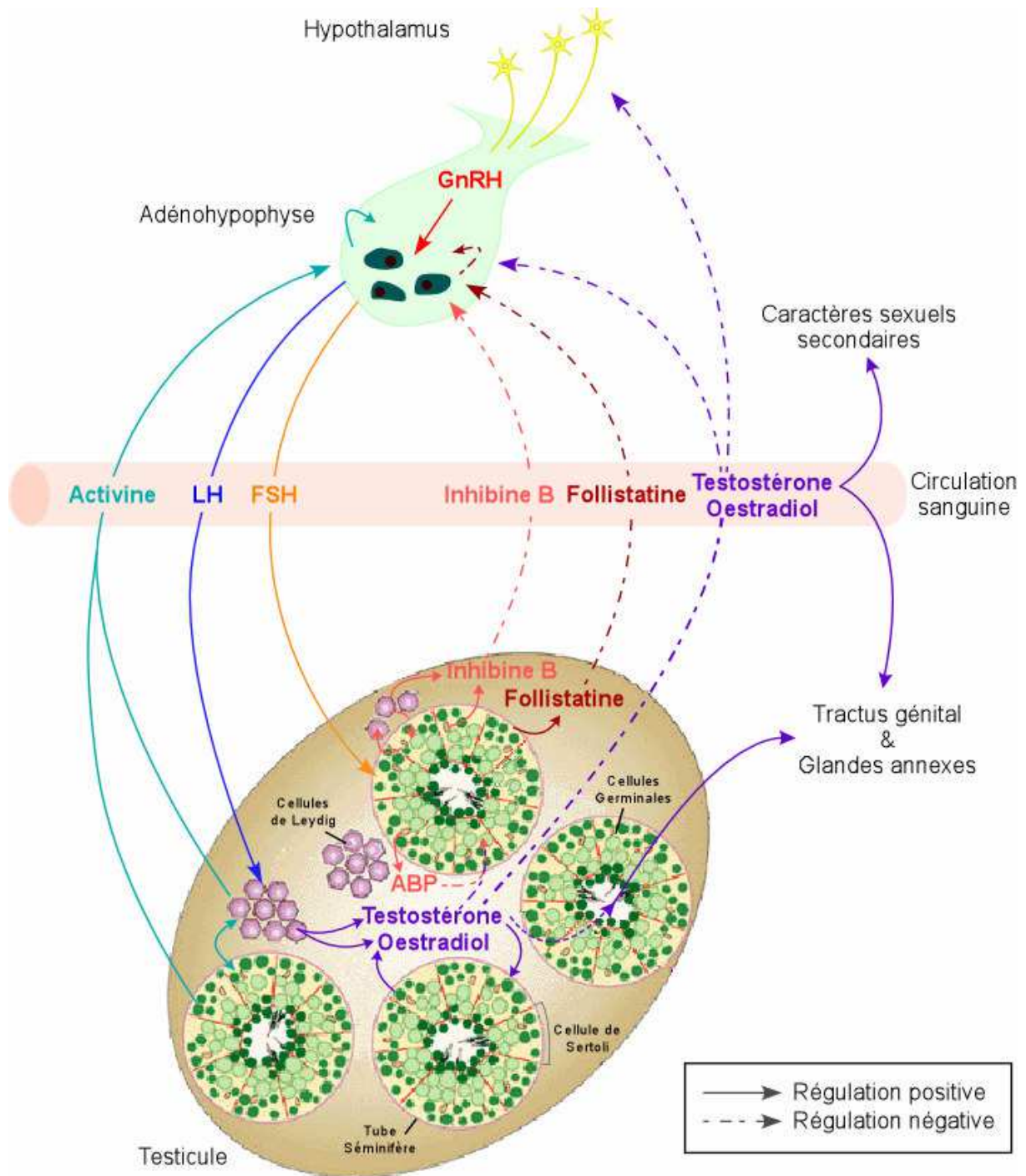


Figure 16: Contrôle endocrinien des fonctions testiculaires

La nécessité de la **cytokine SCF** (Stem cell factor) pour le bon déroulement de la spermatogenèse a été clairement établie. Des souris mutantes déficientes en SCF ou en son récepteur (c-kit) sont stériles et leurs gonades sont dépourvues de cellules germinales (Loveland and Schlatt 1997). Des études sur des rongeurs ont également montré que **l' inhibine** et **l' activine** modulent le nombre de spermatogonies et de cellules de Sertoli (de Kretser *et al.* 2002).

Les nombreux mécanismes moléculaires et cellulaires par lesquels les hormones et les divers facteurs locaux supportent la spermatogenèse sont encore mal compris et nécessitent d' être mieux caractérisés.

La figure 16 résume le contrôle endocrinien des fonctions testiculaires. La stéroïdogénèse est contrôlée par la LH qui se fixe sur les récepteurs membranaires des cellules de Leydig. Ces cellules secrètent alors des androgènes, essentiellement de la testostérone. Sous l' effet de la FSH, les cellules de Sertoli secrètent divers facteurs dont l' ABP. La testostérone va pénétrer dans le cytoplasme sertolien où elle se lie à l' ABP pour conditionner le développement des cellules germinales et le bon fonctionnement des voies génitales (par le liquide séminal). La testostérone libre passe dans le sang et exerce deux fonctions : une action positive sur le tractus génital et sur les glandes annexes, et un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de la LH au niveau de l' hypothalamus et de l' hypophyse. La FSH se fixe sur les récepteurs membranaires des cellules de Sertoli et joue un triple rôle : elle active la spermatogenèse par l' intermédiaire du cytoplasme sertolien, elle stimule la synthèse d' ABP et provoque la sécrétion d' inhibine B qui va exercer un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de FSH au niveau de l' hypophyse.

CHAPITRE IV - Les perturbateurs endocriniens

1. Les perturbateurs endocriniens : Définition

Depuis quelques années, les perturbateurs endocriniens (PE) sont sujets à controverse, captivant le monde scientifique et attirant l'attention des gouvernements, des organismes de réglementation ainsi que des médias.

Au regard de la littérature, un PE ou dérégulateur endocrinien, est défini comme étant un agent exogène capable d'interférer avec la synthèse, la sécrétion, le transport, la liaison, l'activité ou l'élimination des hormones naturelles agissant sur l'homéostasie, la reproduction, le développement et/ou le comportement des organismes (Agence de Protection de l'environnement américaine, US-EPA 1997). L'Organisation mondiale de la santé a défini un PE comme « une substance naturelle ou chimique présente dans l'environnement, capable de modifier les fonctions de l'appareil endocrinien, induisant des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact et/ou de ses descendants » (WHO. 2002).

Cette définition est toutefois difficile à appréhender et a donné lieu à différentes interprétations. En effet la définition du terme PE doit permettre de faire une distinction entre les composés modifiant les fonctions hormonales et ceux n'ayant pas d'effet sur le système endocrinien. Cette définition repose sur deux notions principales : la modification de l'homéostasie endocrinienne et l'induction d'un effet nocif sur la santé. Le SE est un système de communication qui maintient l'équilibre physiologique normal entre un grand nombre de systèmes organiques. Pour ce faire, le SE module ou régule l'activité de presque tous les systèmes de l'organisme, en fonction des fluctuations de la température du corps, du niveau d'activité, du stress et des taux d'éléments nutritifs et d'hormones en circulation qui sont nécessaires à la croissance, à la reproduction et au métabolisme. Certains composés exogènes peuvent donc perturber l'équilibre physiologique sans pour autant être nocifs à l'organisme.

Parmi les PE, on trouve les hormones naturelles, les phyto-œstrogènes, les hormones de synthèse, certains produits chimiques incluant des pesticides et des médicaments, ainsi qu'une variété de produits chimiques industriels et leurs sous-produits. Ils peuvent être classés en deux grandes catégories, en considérant leur nature chimique.

- Les **substances synthétiques**, qui sont de deux types :
 - Les produits chimiques conçus pour une utilisation industrielle (plastifiants, agents anti-rouille...), retrouvés dans l'agriculture (pesticides) dans l'industrie pharmaceutique (médicaments) ou de consommation courante (cosmétiques, produits d'entretien...). Parmi ces produits sont classés les sous-produits industriels tels que les dioxines.
 - Les hormones de synthèse qui sont des hormones identiques aux hormones naturelles, retrouvées dans les contraceptifs oraux, les traitements substitutifs hormonaux ou utilisées comme additifs pour l'alimentation animale. Elles sont spécialement conçues pour agir sur le SE et le moduler.

- Les **hormones naturelles** comprennent la progestérone, la testostérone, les œstrogènes ainsi que les phyto-œstrogènes. Ces dernières substances possèdent une activité oestrogénique et sont retrouvées dans un certain nombre de plantes tels que le soja, l'ail, le persil, le riz, dans certains légumes (carottes, pommes de terre) et certains fruits (pommes, cerises) ou encore dans des boissons (vin, thé, café). Ces phyto-œstrogènes sont facilement métabolisés et éliminés par l'organisme. Au sein de la communauté scientifique, ces composés sont au centre d'une controverse concernant leurs effets bénéfiques (prévention de certains cancers, de l'ostéoporose, de maladies cardiovasculaires) ou néfastes (suite à des modifications du style de vie et des habitudes alimentaires et de consommation qui tendent à augmenter la consommation d'aliments contenant ces substances) sur la santé humaine (Stark and Madar 2002; Usui 2006).

2. Les sources d'exposition

Les sources d'exposition de tout organismes vivants aux PE sont diverses : air, eau, terre. L'eau apparaît comme étant une source potentiellement importante d'exposition aux PE. En effet, certains pesticides, des produits chimiques contenus dans des produits pharmaceutiques ou de consommation de l'homme, un certain nombre de produits chimiques industriels, ainsi que des hormones de synthèse issue des rejets humains sont rencontrés en faible quantité dans certaines rivières d'Europe.

Pour les animaux terrestres, l'alimentation est probablement la principale source d'exposition. La situation est différente pour la faune aquatique, car l'absorption directe de substances chimiques dissoutes dans l'eau est une voie d'exposition significative. De plus, le mode de reproduction des organismes aquatiques, qui place les embryons et les formes

primitives sans protection dans le milieu ambiant, les rend particulièrement sensibles aux substances chimiques présentes dans l'eau.

Pour l'homme, les voies éventuelles d'exposition aux PE incluent l'exposition directe sur le lieu de travail ou par l'intermédiaire de produits de consommation tels que des denrées alimentaires, certains plastiques, détergents, cosmétiques, produits pharmaceutiques, certaines peintures, ainsi que l'exposition indirecte via l'environnement où les PE s'y trouvent, soit de façon naturelle, soit à la suite de pollution.

Des hormones d'origine animale, humaine ou industrielle, qui se retrouvent dans l'environnement, pourraient donc affecter les animaux sauvages, et éventuellement la santé humaine lorsque ces animaux sont consommés ; les poissons et le gibier représentant des sources potentielles de contamination. Les conséquences éventuelles des effets de ces perturbateurs sur le SE sont variées.

En règle générale, la vulnérabilité d'une espèce donnée dépend des propriétés intrinsèques du produit chimique, de l'importance, de la durée, de la fréquence et de la voie d'exposition, ainsi que de la façon dont l'espèce donnée peut absorber, distribuer, transformer et éliminer des substances. Elle dépend également de la sensibilité d'organes particuliers à différentes étapes du développement.

3. Effets des perturbateurs endocriniens

3.1 Généralités

Il a été montré que les PE sont capables d'agir au niveau de nombreux sites via différents modes d'action. Ils sont soupçonnés d'interférer avec le fonctionnement du SE selon trois mécanismes :

- en **mimant** l'action d'une hormone naturelle,
- en **antagonisant** la liaison de l'hormone à son récepteur dans la cellule cible,
- en affectant la synthèse, le transport, le métabolisme et l'excrétion de l'hormone, donc en **altérant sa concentration**

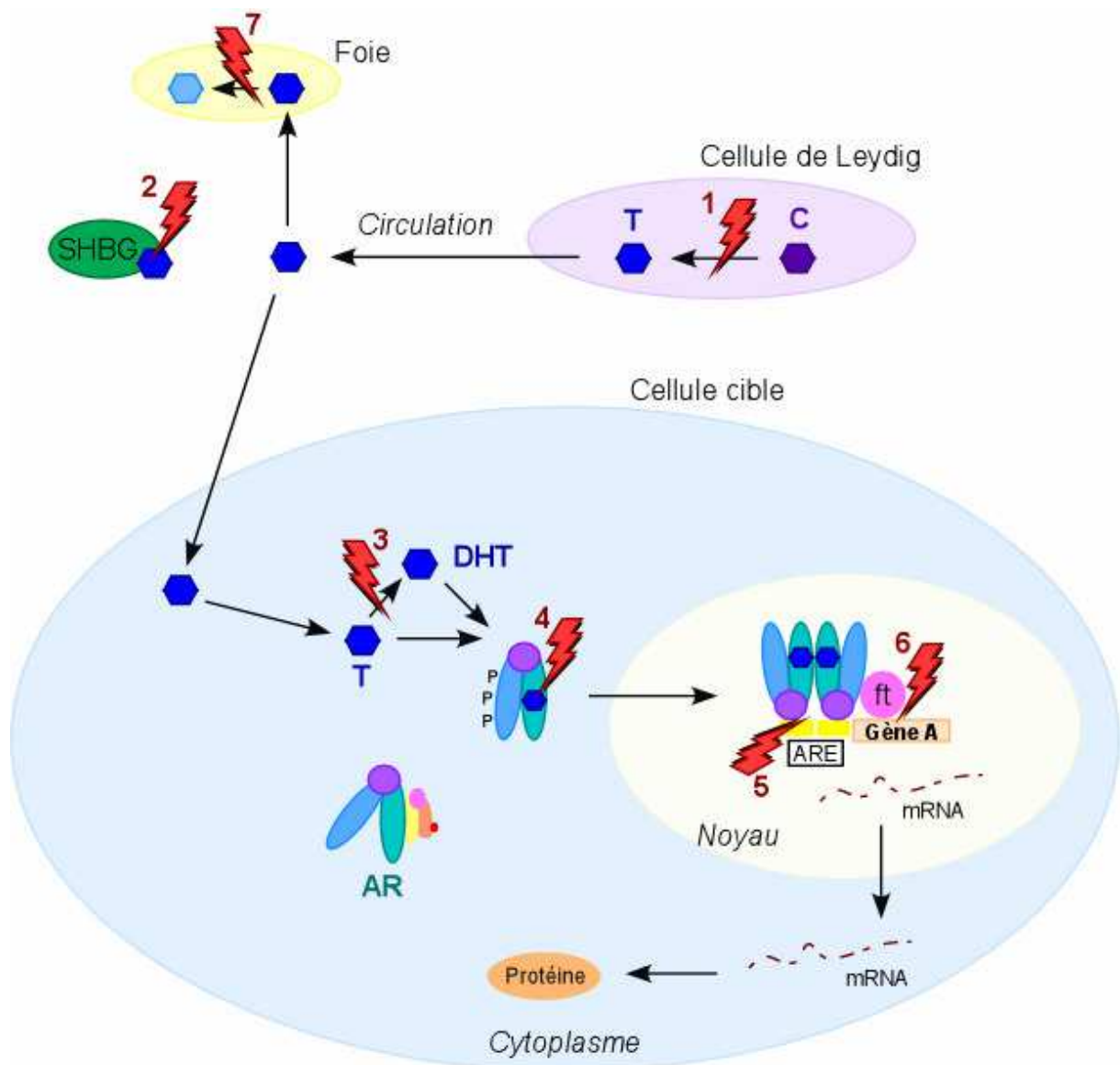


Figure 17 : Modes d' action des hormones stéroïdes et sites potentiels d' action des PE

1. Enzymes de la stéroïdogénèse ; 2. Protéines de transport (SHBG) ; 3. Enzymes métabolisant les pro-hormones ; 4. Récepteur Nucléaire ; 4+ 5. Récepteur Nucléaire + liaison à l' ADN (ARE) ; 6. Cofacteurs des récepteurs nucléaires ; 7. Métabolisme au niveau du foie

[cholestérol (C), testostérone (T), dihydrotestostérone (DHT), récepteur aux androgènes (AR), protéine de transport des stéroïdes (SHBG), élément de réponse aux androgènes (ARE), facteur de transcription (tf)].

De façon générale les PE vont pouvoir soit augmenter, soit diminuer l'action de l'hormone endogène qu'ils vont perturber (Kelce *et al.* 1998; Gray *et al.* 1999b). Malgré le manque de connaissances sur leur mode d'action, de nombreux exemples ont permis de mettre en relation l'exposition à un PE et les effets biologiques observés. Ainsi, certaines notions peuvent être dégagées (WHO. 2002) :

- Une exposition à des PE pendant la vie foetale, et plus précisément pendant la mise en place du système endocrinien, est la plus susceptible d'entraîner une perturbation permanente du système à l'âge adulte.
- Les effets consécutifs à une exposition à des PE à l'âge adulte peuvent être compensés par des mécanismes d'homéostasie et donc ne pas causer d'effets toxiques significatifs ou détectables
- Une exposition à des PE peut entraîner différents effets sur différentes espèces ainsi qu'au sein d'une même espèce à différentes périodes de la vie.
- Compte tenu des interférences possibles entre différentes composantes du système hormonal, les effets des PE peuvent se produire de façon imprévisible dans des tissus cibles autres que ceux supposés être affectés.

La figure 17 schématise un des mécanismes d'action des hormones stéroïdes et résume les sites potentiels d'action des PE entraînant une modulation de l'homéostasie du SE :

- Au niveau des enzymes de synthèse de la stéroïdogenèse affectant la synthèse des androgènes (Moore *et al.* 1991) ;
- Au niveau des protéines de transport (SHBG) (Danzo 1997), affectant la disponibilité des androgènes pour les cellules cibles et pour leur métabolisme par le foie ;
- Au niveau des récepteurs nucléaires, mimant l'action de l'hormone. Les PE peuvent soit induire une réponse semblable à celle de l'hormone endogène (cas des xéno-oestrogènes), soit antagoniser l'action de l'hormone endogène (cas des antiandrogènes). Dans ce cas, les PE se fixent aux récepteurs de l'hormone et empêchent la fixation du complexe PE/récepteur sur l'ADN et donc l'activation ou l'inhibition de gènes cibles ;

- Au niveau des enzymes métabolisant les pro-hormones en hormones actives dans la cellule, comme la 5 α -Red métabolisant la testostérone en DHT (Azzolina *et al.* 1997) ou la P450arom métabolisant la testostérone en oestradiol ;
- Au niveau des cofacteurs du récepteur nucléaire, induisant une altération des réponses hormono-dépendant ;
- Au niveau du foie, entraînant une augmentation ou une diminution du niveau d' hormones métabolisées (Wilson and LeBlanc 2000).

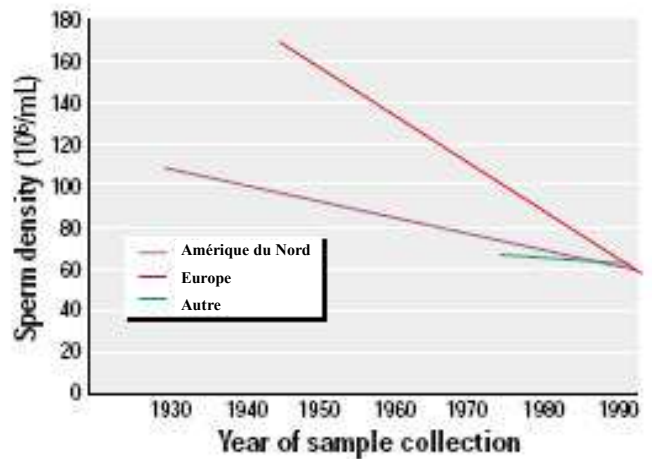
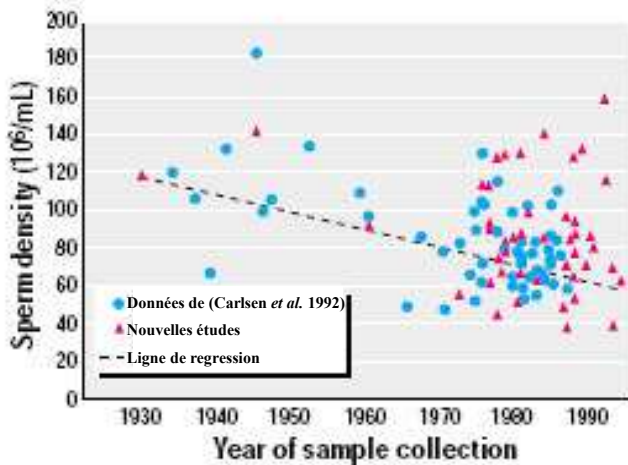
3.2 Effets des perturbateurs endocriniens sur la vie sauvage

L' action des PE sur les organismes vivants a initialement été mise en évidence chez les animaux sauvages. Des études sur la faune terrestre et aquatique ont révélé des modifications du comportement sexuel de certains animaux soumis à des rejets de polluants (Vos *et al.* 2000; WHO. 2002).

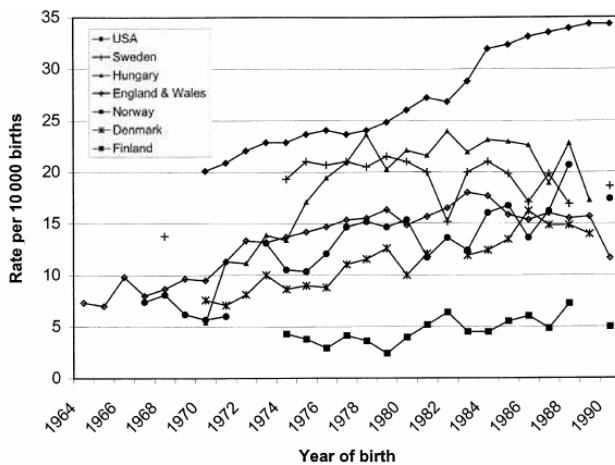
Citons comme exemples :

- La masculinisation des femelles de certaines espèces de gastéropodes marins due au tributylétain (TBT), agent biocide, utilisé dans les peintures antisalissures. Cet agent est responsable du déclin ou de l'extinction de certaines populations locales de gastéropodes dans le monde entier, y compris dans toutes les régions d'Europe et au large de la mer du Nord (Folsvik *et al.* 1999).
- L' amincissement de la coquille d'oeuf d'oiseaux exposés au dichlorodiphenyldichloroéthylène (DDE) est un exemple de troubles de la reproduction qui est à l'origine de très importantes diminutions des populations de plusieurs espèces de rapaces en Europe et en Amérique du nord (Johnstone *et al.* 1996).
- Chez les mammifères, la meilleure preuve est fournie par les études sur le terrain réalisées sur les phoques de la Baltique et de la mer des Wadden, qui ont montré que des troubles de la fonction reproductrice et de la fonction immunitaire étaient dus à la présence de polychlorobiphényles (PCB) dans la chaîne alimentaire (Reijnders 1986; Olsson *et al.* 1994). Les effets sur la reproduction se sont traduits par des diminutions des populations, alors que la

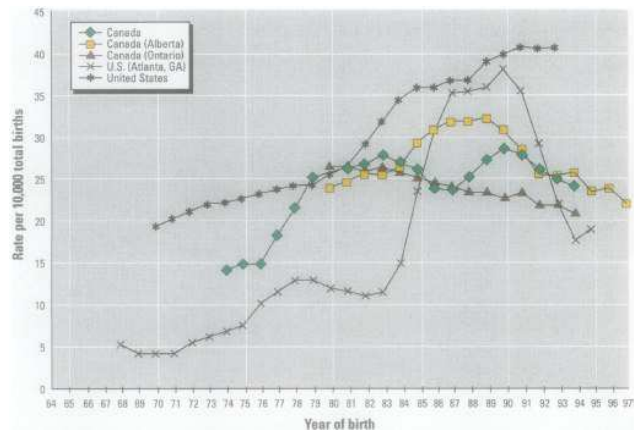
A. Qualité du sperme :



B. Hypospadias :



C. Cryptorchidie :



D. Cancer des testicules :

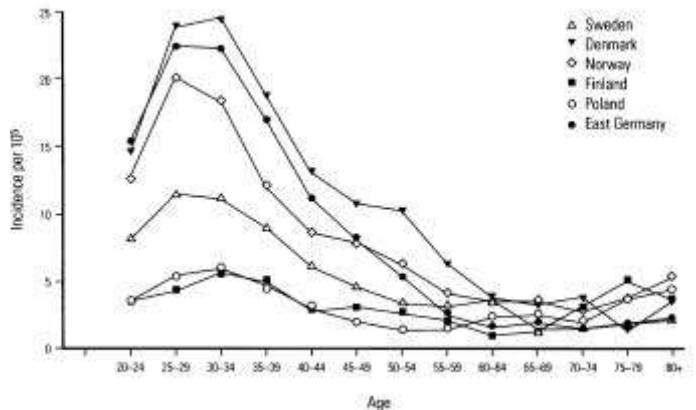
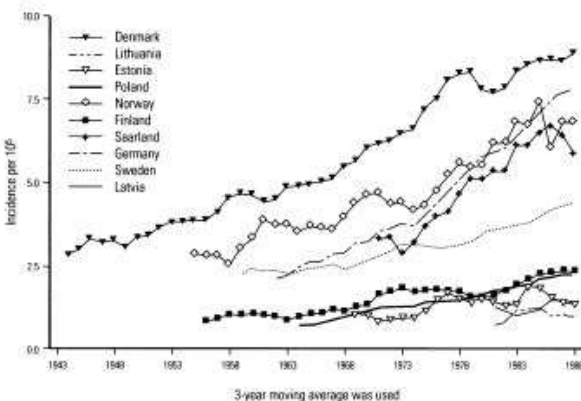


Figure 18 : Evolution de la qualité du sperme et incidence du cancer du testicule, de l'hypospadias et de la cryptorchidie dans les pays nordiques, européens et d'Amérique du Nord

D'après Carlsen *et al.* 1992 ; Adami *et al.* 1994 ; Paulozzi 1999 ; Swan *et al.* 2000 ; Toppari *et al.* 2001.

suppression des fonctions immunitaires a probablement contribué à la mortalité massive due aux infections par le morbillivirus.

- L'effet sur la reproduction de certains poissons exposés aux effluents d'eaux usées de l'industrie du papier et de l'industrie chimique. L'exposition à ces substances entraîne des effets sur les organes reproducteurs, qui pourraient avoir des conséquences pour les populations de poissons (Van der Kraak *et al.* 1992).
- Chez l'alligator, des anomalies du développement et du fonctionnement de l'appareil reproducteur ont été associées à un déversement massif de pesticides organochlorés dans le lac Apopka en Floride (Etats-Unis) (Guillette *et al.* 1994). Les effets oestrogéniques et antiandrogéniques observés chez ce reptile ont été imputés au DDE suite à des études réalisées sur des œufs d'alligators prélevés dans le lac.

3.3 Effets potentiels des perturbateurs endocriniens sur la santé humaine

Il est reconnu, malgré les nombreuses controverses, que les PE affectent aussi bien l'environnement que la santé des êtres humains (Toppari *et al.* 1996). Quelques études décrivent les effets néfastes de certains PE chez l'homme et un certain nombre de cas observés chez l'homme sont suspectés être la conséquence de l'exposition aux PE.

Ainsi on peut citer :

- les phénomènes d'altération des fonctions de reproduction masculine : tendance à la baisse de la qualité et de la quantité du sperme observée dans certains pays (Figure 18 A) (Carlsen *et al.* 1992; Swan *et al.* 2000) ;
- les troubles de la fonction reproductrice féminine en raison d'anomalies de la différenciation sexuelle, de la fonction ovarienne, de la fertilité, de l'implantation de l'embryon et de la gestation (McLachlan *et al.* 2006) ;
- les malformations du système reproducteur masculin : cryptorchidie (défaut de migration et descente incomplète du testicule), hypospadias (anomalie de

position du méat urinaire) (Figure 18 B & C) (Paulozzi 1999; Toppari *et al.* 2001; Bay *et al.* 2006) ;

- l'augmentation du nombre de tumeurs des testicules (Figure 18 D) (Adami *et al.* 1994) , de la prostate (Alavanja *et al.* 2003) et des seins (Fenton 2006) (Hoel *et al.* 1992) ;
- les troubles de la maturation sexuelle (par exemple puberté précoce) (Teilmann *et al.* 2002) ;
- l'inversement du "sex-ratio" : naissance d'un plus grand nombre de filles que de garçons (Parazzini *et al.* 1998);
- l'altération de la fonction thyroïdienne ; ces altérations peuvent perturber la croissance et le développement (Zoeller 2005) ;
- les perturbations au niveau du système immunitaire (Igarashi *et al.* 2006)
- les troubles du comportement (Schantz and Widholm 2001)

La figure 18 présente des données épidémiologiques collectées jusque dans les années 90. Depuis ces dix dernières années, très peu de données relatives à la qualité du sperme ainsi qu'à l'incidence des phénomènes d'hypospadias, de cryptorchidie et de cancer des testicules ont été publiées, ce qui ne nous permet pas de mettre à jours ces résultats.

Il s'avère que la majorité des effets néfastes des PE observés, s'exercent sur les fonctions de reproduction et du développement, et interfèrent avec les trois axes hormonaux principaux: l'axe hypothalamus-hypophyse-gonade, l'axe hypothalamus-hypophyse-thyroïde et l'axe hypothalamus-hypophyse-surrénales.

L'ensemble des problèmes liés à l'appareil reproducteur mâle (cryptorchidie, hypospadias, altération de la spermatogenèse, et cancer testiculaire) est regroupé sous le terme de Syndrome de Dysgénésie Testiculaire (TDS). Sharpe et Skakkebaek ont été les premiers à suggérer que ces altérations au niveau de l'appareil reproducteur mâle, pouvaient être liées à une perturbation endocrinienne, par analogie avec les observations faites chez les fils de femmes exposées au diéthylstilbestrol (DES) (Sharpe and Skakkebaek 1993). Par la suite, l'attention de la communauté scientifique s'est portée sur les effets potentiels des antiandrogènes dans le développement de l'appareil reproducteur mâle (Gray and Kelce

1996; Kelce *et al.* 1998). Ainsi, de nombreux composés, tels que des œstrogènes (DES, bisphénol A) et des antiandrogènes (Flutamide, Vinclozoline, DDE, DDT), semblent être susceptibles d'induire de nombreuses perturbations (TDS) chez des animaux mâles exposés pendant leur vie intra utérine ou à l'âge adulte.

Mis à part les cas du DES et des dioxines (cf. ci-dessous), les effets délétères des PE sur la santé humaine, même s'ils sont soupçonnés, ne sont pas encore clairement établis (Ashby *et al.* 1997). Par contre, leurs effets étant reconnus au niveau de la vie sauvage, les données obtenues chez l'animal peuvent et doivent servir d'indicateurs sur d'éventuels effets sur l'homme.

Aujourd'hui, les PE les plus étudiés sont ceux qui sont susceptibles d'interférer avec les œstrogènes, les androgènes et les hormones thyroïdiennes, car ces hormones assurent les fonctions essentielles de reproduction, de développement et de croissance chez l'homme et la faune.

4. Quelques exemples de perturbateurs endocriniens

Nous allons passer en revue différentes substances connues pour être des PE et dont il a été montré qu'elles étaient susceptibles de produire des effets néfastes sur les fonctions de reproduction et du développement (d'après (Kelce and Wilson 1997; Gray *et al.* 2001; WHO. 2002)).

- Les substances interférant avec les androgènes

- Antiandrogènes agissant au niveau du récepteur aux androgènes :

Le flutamide est utilisé dans le traitement des cancers de la prostate, **la vinclozoline** et **le procymidone** sont des fongicides dicarboximides ; **le p,p'-DDE** (para,para'-dichlorodiphényldichloroéthylène) est un métabolite persistant du pesticide dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT); **le linuron** est un herbicide. Ils sont tous, à des degrés divers, des antagonistes du récepteur aux androgènes.

Le flutamide, molécule de référence utilisée dans le cadre de cette thèse, sera discuté en détail dans un paragraphe spécifique page 58.

Les métabolites M1 et M2 de la vinclozoline (Kelce *et al.* 1994), le p,p'-DDE (Kelce *et al.* 1995), le linuron (Lambright *et al.* 2000; McIntyre *et al.* 2000) et le procymidone (Ostby *et al.* 1999) sont capables de se lier aux AR, inhibant de façon compétitive la liaison des androgènes à leurs récepteurs. Ces composés sont ainsi capables d'inhiber l'activité transcriptionnelle, normalement induite par les androgènes, en empêchant le AR de se fixer à l'ADN et donc l'induction de l'expression de gènes androgéno-dépendants (Wong *et al.* 1995; Kelce *et al.* 1997; Lambright *et al.* 2000; Kubota *et al.* 2003; Rosen *et al.* 2005).

Des études montrent que l'exposition de rats mâles, au cours de leur gestation et pendant la période néonatale, à la vinclozoline (Gray *et al.* 1994; Gray *et al.* 1999a), au p,p'-DDE (You *et al.* 1998; You *et al.* 1999) ou au procymidone (Gray *et al.* 1999b; Ostby *et al.* 1999) entraîne des effets sur le développement qui sont caractéristiques d'un antiandrogène. Ainsi une inhibition de la croissance de tissus androgéno-dépendants et une réduction de la distance anogénitale, une rétention des mamelons, une hypospermatogenèse, une incidence accrue de cryptorchidies et d'hypospadias sont observées, provoquant une altération de la fonction reproductrice. Le linuron, qui possède une affinité moindre pour le récepteur aux androgènes, induit également de nombreux effets sur l'appareil reproducteur mâle, tels que des malformations des testicules et de l'épididyme (Gray *et al.* 1999b). Les effets du linuron sembleraient passer par plus d'un mécanisme d'action (Lambright *et al.* 2000; McIntyre *et al.* 2000; Gray *et al.* 2001).

Des rats mâles immatures, soumis à une exposition à la vinclozoline ou au p,p'-DDE, montrent un retard dans le démarrage de la puberté et, dans le cas de la vinclozoline, une augmentation du niveau de LH et de testostérone plasmatiques est également observée (Kelce *et al.* 1995; Monosson *et al.* 1999).

L'administration de vinclozoline (300 mg/kg/j) (O'Connor *et al.* 2002) ou de linuron (200 mg/kg/j) (Cook *et al.* 1993) chez des rats mâles adultes entraîne une augmentation de la LH, ainsi qu'une hyperplasie (prolifération) des cellules de Leydig et une atrophie de la prostate et de l'épididyme. En plus de ces effets, le procymidone induit une augmentation du niveau de la testostérone plasmatique (Hosokawa *et al.* 1993). Le p,p'-DDE (200 mg/kg/j) entraîne, quant à lui, une atrophie de la prostate et des vésicules séminales après 4 jours de traitement chez des rats Long-Evans (Kelce *et al.* 1995), ce qui n'est pas observé chez des Sprague-Dawley (O'Connor *et al.* 2002). Ceci pose le problème de la souche utilisée et des différences de réponses en terme de sensibilité de réponse observée (O'Connor *et al.* 1999).

- Antiandrogènes agissant au niveau de la synthèse des hormones stéroïdiennes :

- **Les phtalates** sont très largement utilisés comme plastifiants depuis les années 1930 ; ils entrent dans la composition d'une grande variété de produits: emballages de laits infantiles ou de cosmétiques, peintures et jouets en polychlorure de vinyle (PVC) pour enfants. Il se pourrait d'ailleurs que ces substances puissent être ingérées par les enfants lorsque ceux-ci portent leurs jouets à la bouche. Dans les aliments tels que le lait, le fromage, les poissons, les viandes, les céréales, on les trouve en partie à la suite de leur relargage des conteneurs ou emballages. Des concentrations importantes des métabolites des phtalates ont été détectées dans les urines de femmes en âge d'avoir des enfants, ces composés étant largement utilisés dans de nombreux produits cosmétiques comme les vernis à ongles, les déodorants, les shampooings ou encore les laits pour le corps (Blount *et al.* 2000; Schettler 2006).

L'exposition de rats mâles, au cours de la différenciation sexuelle, au di(n-butyl) phthalate (DBP) ou au di(2-éthylhexyl)phthalate (DEHP), entraîne de nombreux effets sur le développement de l'appareil reproducteur mâle tels qu'une diminution de la distance anogénitale, une rétention des aréoles et mamelons, un phénomène de cryptorchidie et d'hypospadias, une diminution de la production spermatique, une hyperplasie des cellules de Leydig ou encore une diminution de poids de la prostate (Gray *et al.* 1999b; Mylchreest *et al.* 1999). Ces effets seraient à relier à une action antiandrogénique, dont les mécanismes restent à déterminer. En effet, ces effets ne passeraient pas par une liaison avec le récepteur aux androgènes, mais seraient dus à une diminution de la synthèse de testostérone par les cellules de Leydig et donc à une diminution des taux de testostérone pendant la vie foetale, période critique de différenciation de l'appareil génital mâle (Parks *et al.* 2000).

Ces composés ont également été décrits comme pouvant affecter la reproduction chez l'adulte. Le DEHP peut induire une atrophie des testicules de rat adultes après 90 jours de traitement, mécanisme semblant passer par les cellules de Sertoli (Gray and Butterworth 1980). De plus, l'administration de DBP (500 mg/kg/j) pendant 15 jours, provoque une augmentation du niveau de LH et une diminution du niveau de testostérone plasmatique chez des rats mâles adultes, mais aucun effet au niveau des organes reproducteurs n'est observé (O'Connor *et al.* 2002). Les effets de ces composés apparaissent être réversibles et dépendants de l'âge des rats.

- **Les dioxines** : Sous ce terme général sont regroupés un certain nombre de composés polychlorés (dioxines, PCB ou furanes), qui ont une structure apparentée et qui produisent des effets biologiques semblables car ils agissent suivant le même mode d'action. Le composé le plus toxique et le plus répandu est la TCDD (2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine) qui, par extension, est le plus souvent appelé « dioxine ». La principale source de dioxines en Europe de l'Ouest est constituée par les incinérateurs de déchets, qui produisent les dioxines comme sous-produits de combustion. Un certain nombre d'études épidémiologiques ont pu être réalisées chez l'homme, à la suite d'expositions accidentelles (comme l'accident industriel ayant eu lieu à Seveso en Italie en 1976) ou liées à l'activité professionnelle (Kogevinas 2001). Chez l'homme, l'exposition s'effectue presque entièrement via l'alimentation, et plus particulièrement par les produits laitiers, le poisson et la viande. Les dioxines sont des composés lipophiles qui sont métabolisés et éliminés lentement par l'organisme, et tendent donc à la bioaccumulation.

De nombreuses études ont montré qu'une exposition à la TCDD entraînait un large panel d'effets, comme l'induction d'enzymes de la détoxification, la modulation de l'expression de nombreux gènes, une toxicité au niveau du foie, du système immunitaire et des fonctions de la reproduction et du développement (Birnbaum and Tuomisto 2000; Mandal 2005). Ce composé a également été classé comme carcinogène pour l'homme depuis 1997. Les effets induits par le TCDD semblent dépendants de nombreux facteurs tels que l'âge, le sexe et l'espèce. Une exposition périnatale à la TCDD aurait des effets sur l'appareil reproducteur mâle (Gray *et al.* 1995). Ces effets incluent, entre autres, un retard pubertaire, une diminution de la concentration plasmatique de testostérone, une diminution de la production spermatique et une diminution du poids des organes sexuels secondaires. L'ensemble de ces effets ressemble à ceux induits par des antiandrogènes tels que la vinclozoline ou les phtalates. Par contre, ces substances n'induisent pas de réduction de la distance anogénitale, de rétention des aréoles ou des mamelons ni d'hypospadias, ce qui suggère qu'elles pourraient affecter l'appareil reproducteur mâle via d'autres voies que celles du récepteur aux androgènes. Il a été montré que ces effets seraient dus à une activité antiandrogénique passant par l'AhR (Récepteur Aryl hydrocarbure) (Safe 2001). De plus, chez le rat mâle, les dioxines affecteraient la biosynthèse des stéroïdes en altérant probablement la mobilisation du cholestérol (Moore *et al.* 1991).

- **le kétoconazole** est un fongicide à noyau imidazole. Ce composé est également utilisé pour traiter l'hyperandrogénisme ovarien chez la femme (Pepper *et al.* 1990). Le kétoconazole est capable d'inhiber de nombreuses enzymes appartenant au cytochrome P450, tel que la P450_{scc} et la P450_{c17} au niveau du testicule chez le rat et l'homme (Schurmeyer and Nieschlag 1984; Wilson and LeBlanc 2000).

L'exposition de rats au kétoconazole, au cours de la gestation, induit un retard de la mise bas et des pertes de fœtus dus à l'inhibition de la synthèse de progestérone. Aucune anomalie au niveau de l'appareil reproducteur n'a pu être mise en évidence (Gray *et al.* 1999b). Par contre, l'administration de kétoconazole à des rats adultes, a des effets dramatiques au niveau de la synthèse des stéroïdes et de la fertilité, même après une exposition unique (Waller *et al.* 1990; Heckman *et al.* 1992).

- **l'iprodione** est un fongicide dicarboximide, qui semble agir au niveau de la protéine StAR, protéine clef impliquée dans la biosynthèse des stéroïdes. L'administration d'iprodione (300 mg/kg/d, pendant 14 jours) à des rats mâles adultes, induit une diminution du niveau de testostérone, une augmentation de LH et une hyperplasie des cellules de Leydig.

- Les substances interférant avec les œstrogènes

La capacité de certains pesticides, tel que le méthoxychlore ou le o,p'-DDT (ortho, para'-dichlorodiphényltrichloroéthane) dérivés du DDT, à agir comme des substances œstrogéniques est connue depuis plus d'une trentaine d'années (Bitman *et al.* 1968; Gaido *et al.* 1999) et l'œstrogénicité de produits chimiques comme le bisphénol A ou le DES a été décrite pour la première fois en 1936 (Dodds and Lawson 1936). De nombreuses substances œstrogéniques ont été identifiées par l'utilisation de tests *in vitro* (par exemple, liaison au(x) récepteur(s) aux œstrogènes, induction de la prolifération de cellules de cancer du sein et activation transcriptionnelle), et des études *in vivo* ont également montré une activité œstrogénique pour un bon nombre d'entre elles.

Parmi ces substances, on peut citer :

- **le DES** (diéthylstilbestrol) est un œstrogène de synthèse non stéroïdien. Ce médicament a été découvert en 1938 et a été commercialisé, principalement sous le nom de distilbène, d'abord aux Etats-Unis, puis dans le reste du monde à partir de 1948. Vers la fin des années 50, il était très largement prescrit en cures répétées et à des doses croissantes aux femmes enceintes, afin de limiter le risque de fausse-couche et d'accouchement prématuré. C'est en 1971 que paraissent les premières publications faisant état d'un risque accru d'une forme rare d'adénocarcinome du vagin chez les filles dont les mères ont suivi un traitement par le DES (Herbst *et al.* 1971).

De nombreuses études épidémiologiques ont été menées et ont pu clairement mettre en évidence un lien entre une exposition au DES au cours de la vie foetale et des malformations de l'appareil reproducteur, ainsi qu'un risque accru de certains cancers, aussi bien chez la femme que chez l'homme (Swan 2000; Newbold 2004). Des malformations de l'appareil génital, de l'utérus et du vagin ont été rapportées chez les filles dont les mères ont été traitées par le DES, provoquant des problèmes de fertilité ou des difficultés à mener une grossesse à terme (grossesses extra-utérines, avortements spontanés, naissances prématurées) (Kaufman *et al.* 2000). Concernant les hommes exposés au DES au cours de leur vie foetal (*in utero*), les études sont beaucoup moins nombreuses. Le DES entraînerait un effet délétère au niveau de l'appareil reproducteur, à l'origine d'une diminution de la fertilité. Des anomalies de l'appareil uro-génital, comme des kystes de l'épididyme, des phénomènes de cryptorchidie et d'hypospadias, des anomalies au niveau de la quantité et de la qualité spermatique et des cancers du testicule sont observés (Bibbo *et al.* 1977; Schrager and Potter 2004).

Ces études constituent le seul lien établi de façon indiscutable entre une exposition à un PE au cours de la gestation et des effets délétères sur la santé humaine, et plus particulièrement au niveau de l'appareil reproducteur.

- **le bisphénol A** est une substance qui est utilisée dans la production de résines époxy et de plastiques que l'on retrouve dans de nombreux emballages alimentaires, mais aussi dans certains polymères utilisés pour des soins dentaires. Des études ont montré son caractère oestrogénique *in vitro* et *in vivo* (Kim *et al.* 2001). Une exposition au bisphénol A au cours de la vie foetale semble entraîner des effets néfastes sur le développement de l'appareil reproducteur mâle et femelle, ayant pour conséquence des problèmes de fertilité et de cancer (Maffini *et al.* 2006). Ces résultats sont controversés par les industries du plastique (vom Saal and Hughes 2005).

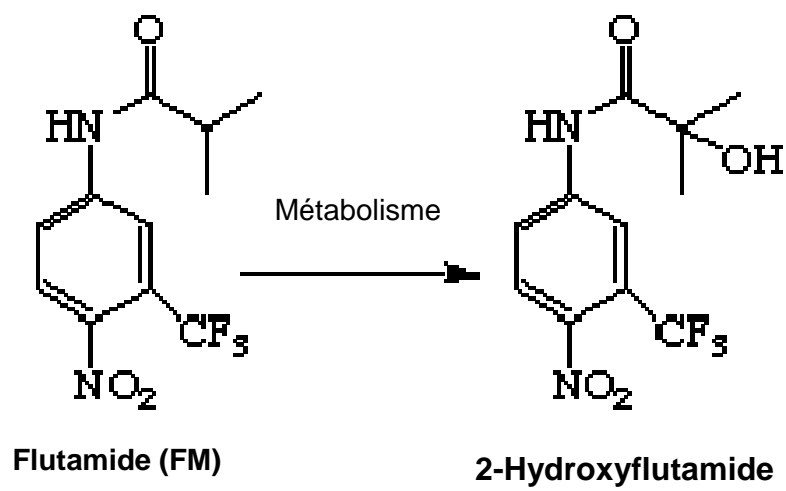


Figure 19 : Structure chimique du flutamide (FM) et de son métabolite actif, le 2-Hydroxyflutamide

Certains de ces composés sont aujourd'hui interdits en Occident, mais ils existent toujours dans l'environnement à cause de leur persistance, de leur bioaccumulation et de leur utilisation dans des pays où les réglementations d'utilisation sont moins sévères.

5. Modèle de perturbateur endocrinien antiandrogénique: le flutamide

Le flutamide [2-méthyl-*N*-(4-nitro-3-(trifluorométhyl)phényl)propanamide] est un antiandrogène non stéroïdien, appartenant à la catégorie des hormones de synthèse. Il est utilisé notamment dans le traitement des cancers de la prostate avec métastases, dans le cadre d'un traitement anti-hormonal (Goldspiel and Kohler 1990; Balk 2002), en association avec une castration médicale ou chirurgicale. Il est également préconisé lors d'hirsutisme majeur chez la femme.

Le flutamide (FM) est rapidement absorbé et métabolisé en 2-hydroxyflutamide dans le foie ([Figure 19](#)). Chez l'homme, le pic plasmatique du FM est atteint en 2 heures environ et la demi-vie plasmatique du 2-hydroxyflutamide est d'environ 6 heures chez le sujet jeune et de 8 heures chez le sujet âgé. Ce métabolite est considéré comme l'agent actif, inhibant de façon compétitive la liaison des androgènes (testostérone et DHT) à leur récepteur (AR) (Peets *et al.* 1974; Katchen and Buxbaum 1975). Ainsi, le 2-hydroxyflutamide est capable de se lier au AR au niveau des cellules cibles (Simard *et al.* 1986), avec une affinité supérieure à celle du FM. Cet antiandrogène empêche ainsi la liaison du AR aux éléments de réponse aux androgènes sur l'ADN (ARE) et module donc la transcription des gènes androgéno-dépendants (Kemppainen *et al.* 1992) ([Figure 20](#)).

L'administration de FM (100 mg/kg/j, pendant 28 jours) chez des rats mâles adultes a pour conséquence un dérèglement de la balance hormonale, avec une augmentation du niveau de LH et de testostérone, ainsi qu'une augmentation du niveau de FSH et d'œstradiol. Une diminution du poids des organes androgéno-dépendants (prostate, vésicules séminales et épидидyme) et une hyperplasie des cellules de Leydig sont également observées (Andrews *et al.* 2001; Kunimatsu *et al.* 2004). En diminuant la dose de FM administrée (Chandolia *et al.* 1991; Toyoda *et al.* 2000) ou le temps d'exposition (Marchetti and Labrie 1988; Okahara *et al.* 2000), les mêmes effets, au niveau des hormones et des organes androgéno-dépendants, sont observés de manière moins marqués.

Le FM est capable de bloquer le rétrocontrôle de la testostérone au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse (Viguié-Martinez *et al.* 1983). Ceci induit une augmentation de sécrétion de LH, provoquant une augmentation de la production et

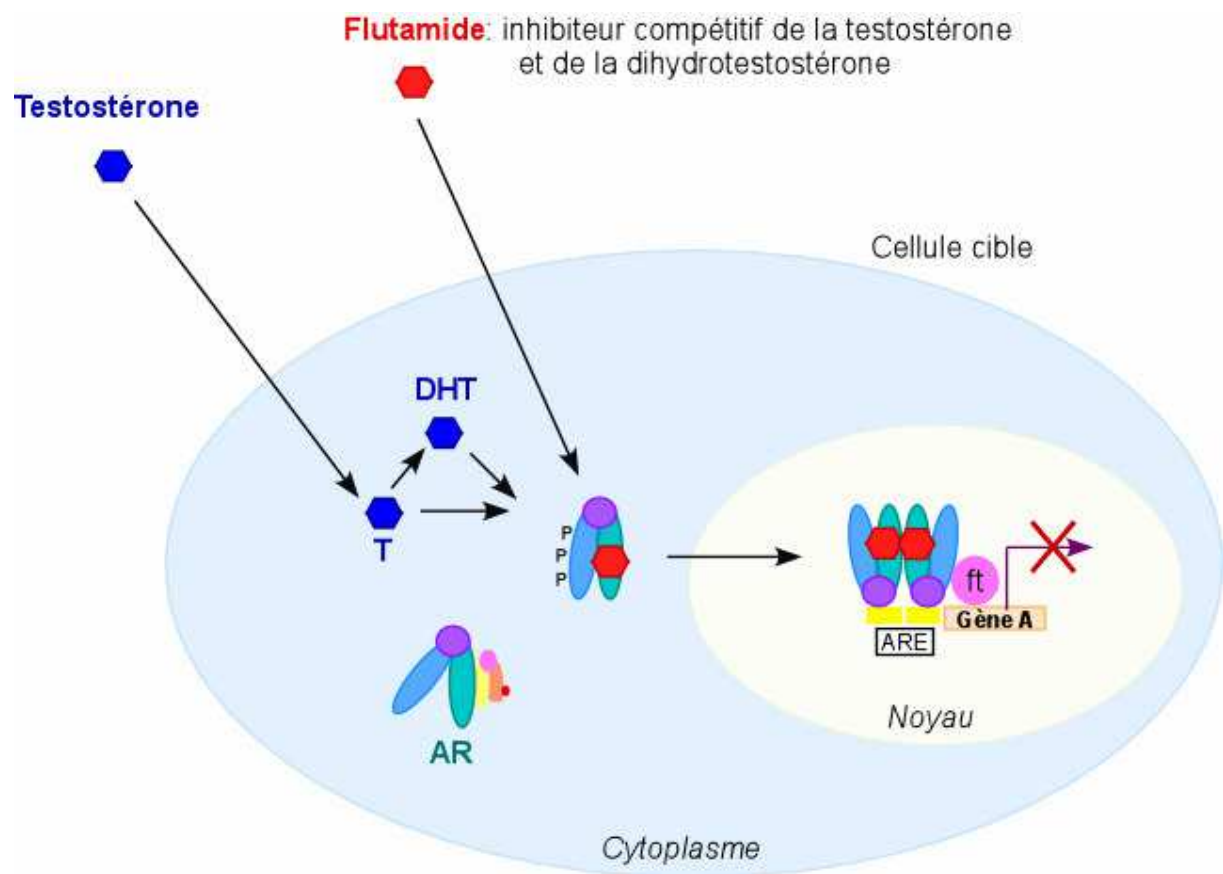


Figure 20 : Mode d' action du flutamide

sécrétion de testostérone ainsi que la stimulation des cellules de Leydig et donc l'hyperplasie de ces cellules. Chez l'adulte, les androgènes jouent un rôle important dans la croissance et le maintien des fonctions de l'appareil reproducteur. Le FM exerce une forte inhibition sur l'action de la testostérone au niveau des organes androgéno-dépendants, induisant une altération de la croissance de ces tissus.

Des rats mâles traités pendant leur vie foetale par le FM développent également un certain nombre d'anomalies de l'appareil reproducteur, caractéristiques d'une exposition à un antiandrogène. Parmi ces anomalies, une cryptorchidie, une hypospermatogénèse, une atrophie de la prostate, une féminisation des organes génitaux externes (diminution de la distance anogénitale, ouverture vaginale) et une rétention des mamelons peuvent être observées à l'âge adulte (Husmann and McPhaul 1991; Imperato-McGinley *et al.* 1992; McIntyre *et al.* 2001; Miyata *et al.* 2002). Chez le rat et l'homme, la production d'androgènes pendant la période foetale est absolument nécessaire au développement normal de l'appareil reproducteur mâle. La testostérone est nécessaire au développement des testicules et à la différenciation des canaux de Wolff en épидидyme, vésicules séminales et canaux déférents, alors que la DHT produite localement stimule le développement de la prostate ainsi que les organes génitaux externes, et inhibe le développement des mamelons. Ainsi, l'exposition à des antiandrogènes pendant la vie foetale perturbe le développement androgéno-dépendant de l'appareil reproducteur mâle.

Dans la littérature, plusieurs études rapportent également l'effet du FM au niveau de la spermatogénèse. Cependant, les mécanismes par lesquels le FM perturbe ce processus sont à ce jour mal compris.

Une dégénération des spermatocytes et une diminution du nombre de spermatocytes leptotènes, spermatides rondes et allongées sont observées dans le testicule de rats adultes traités pendant 14 jours au FM à 10 mg/kg/j (injection sous cutanée) (Viguiier-Martinez *et al.* 1983) et pendant 14 jours et 28 jours à une dose de 200 mg/kg/j (gavage) (Okahara *et al.* 2000). Il est montré qu'après 3 jours de traitement au FM (10 mg/kg/j), une induction de l'apoptose (activation de caspases pro-apoptotiques) est retrouvée au niveau des cellules germinales (Omezzine *et al.* 2003), ce phénomène étant réversible après arrêt du traitement. De plus, une diminution du nombre de spermatozoïdes viables et une augmentation de la fréquence de spermatozoïdes anormaux sont observées au niveau de l'épididyme de rats traités pendant 28 jours au FM (100 mg/kg/j) (Andrews *et al.* 2001; Kunimatsu *et al.* 2004). Les mêmes observations, ainsi qu'une diminution de la motilité des spermatozoïdes sont rapportées dès 14 jours de traitement au FM (200 mg/kg/j) (Okahara *et al.* 2000). De récentes études montrent également que le FM est capable de perturber la spermatogénèse, et plus spécifiquement l'étape de spermiogénèse, en altérant les jonctions spécialisées

(spécialisation ectoplasmique) entre les cellules de Sertoli et les spermatides, ainsi que l'acrosome et le noyau des spermatides (Anahara *et al.* 2004).

Par ailleurs, des phénomènes de dégénération de l'épithélium séminifère ont également été décrits chez des rats adultes exposés au FM au cours leur vie foetale (Mylchreest *et al.* 1999; Miyata *et al.* 2002). L'hypospermatogenèse observée chez ces rats adultes semblerait due à un phénomène d'apoptose des cellules germinales. Une augmentation de l'expression et de l'activation de caspases effectrices et de facteurs pro-apoptotiques, ainsi qu'une inhibition de facteurs anti-apoptotiques ont été montrées dans ces cellules (Omezzine *et al.* 2003; Bozec *et al.* 2004; Maire *et al.* 2005).

Chez les rats mâles traités à l'âge adulte, le FM semble donc être capable de perturber la spermatogenèse, affectant ainsi la fertilité (Viguié-Martinez *et al.* 1983), après un temps d'exposition court. En effet, la spermatogenèse est sensible aux variations de niveau de LH et elle est dépendante de la testostérone (Russell and Clermont 1977; Parvinen 1982). Ce phénomène apparaît néanmoins être temporaire, car après une exposition prolongée au FM, aucune altération au niveau de la spermatogenèse n'est observée, seules les conséquences au niveau de l'altération des spermatozoïdes dans l'épididyme sont rapportées. De plus, une augmentation du nombre de spermatides rondes, et de spermatogonies A et spermatocytes préleptotènes est observée respectivement après 21 et 56 jours de traitement au FM à 20 mg/kg/j (injection sous cutanée) (Chandolia *et al.* 1991) ou après 28 jours à 4 mg/kg/j FM (Toyoda *et al.* 2000). La restauration d'une spermatogenèse normale, après une exposition prolongée au FM, est probablement due à un ou des phénomènes compensatoires se mettant en place progressivement et contrecarrant l'effet du FM au niveau du testicule.

La spermatogenèse est un processus dépendant des androgènes. Chez l'adulte, la suppression de testostérone peut induire une spermatogenèse incomplète ainsi que des phénomènes d'infertilité. Les mécanismes moléculaires par lesquels les androgènes régulent la spermatogenèse ne sont pas encore complètement compris. Afin de montrer l'importance de la testostérone pour la spermatogenèse, diverses études, supprimant l'effet de la testostérone dans le testicule, ont été menées. L'utilisation de souris déficientes en GnRH (*hpg*) (Sadate-Ngatchou *et al.* 2004), de souris transgéniques sur-exprimant la protéine ABP (Petrusz *et al.* 2005) ou de rats traités à l'éthane diméthane sulfonate (EDS), supprimant les cellules de Leydig (Turner *et al.* 2001), permet de moduler le niveau de testostérone, en diminuant sa synthèse ou sa biodisponibilité. D'autres études visent à altérer les ARs par lesquels les effets de la testostérone sont médiés, en utilisant des souris knock out pour ce récepteur (ARKO) (Yeh *et al.* 2002; Denolet *et al.* 2006), ou en administrant des antiandrogènes (Ohsako *et al.* 2003; Zhou *et al.* 2005). L'ensemble de ces études permet

d' étudier les gènes dépendants et régulés par la testostérone. A l' heure d' aujourd' hui, seuls quelques gènes sont connus pour avoir leur expression régulée par les androgènes au niveau de l' appareil reproducteur mâle: le facteur de transcription Pem, (Lindsey and Wilkinson 1996; Sutton *et al.* 1998), le protooncogène c-myc (Lim *et al.* 1994) et l' isoenzyme de détoxification GST α (Benbrahim-Tallaa *et al.* 2002), tous trois exprimés dans les cellules de Sertoli, ainsi que le Cyp17a1 exprimé dans les cellules de Leydig (Burgos-Trinidad *et al.* 1997).

L' étude des effets du FM sur l' appareil reproducteur de rats mâles adultes, s' inscrit en partie dans cet objectif de compréhension des mécanismes moléculaires par lesquels les androgènes régulent la spermatogenèse. Quelques études ont montré que le FM était capable d' induire une modulation de l' expression de certains de ces gènes androgéno-dépendants (Ohsako *et al.* 2003; Zhou *et al.* 2005). Une analyse fonctionnelle de l' ensemble des gènes modulés suite à la suppression des effets de la testostérone apparaît être nécessaire à une meilleure compréhension des mécanismes de régulation des fonctions testiculaires.

Par ailleurs, le FM est fréquemment utilisé comme molécules de référence dans les études de toxicologies conventionnelles (test de Hershberger, études suivant la ligne directrice 407 de l' OCDE,...) visant à détecter les composés ayant une activité de type perturbateur endocrinien (O'Connor *et al.* 1998; Toyoda *et al.* 2000; Andrews *et al.* 2001; O'Connor *et al.* 2002; Kunimatsu *et al.* 2004).

6. Etudes de toxicologie

6.1 Etudes conventionnelles

Depuis quelques années, divers tests de criblage et d' études à moyen terme ont été développés afin de détecter les molécules se comportant comme des perturbateurs endocriniens. Ces tests sont effectués aussi bien sur des mammifères, afin d' évaluer les effets potentiels des PE chez l' Homme, que sur des non mammifères pour la protection de l' environnement.

En 1996, l'USEPA (United States Environmental Protection Agency) ainsi que l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques), ont mis en place des programmes visant à améliorer l'évaluation des PE. Ces programmes ont pour objectif de diffuser les informations et coordonner les activités, d'élaborer de nouvelles lignes directrices pour les essais et de réviser les lignes directrices existantes visant à détecter les PE, ainsi que d'harmoniser les méthodes de caractérisation des dangers et des risques.

Des validations internationales ont été réalisées ces dernières années pour trois tests permettant de détecter chez le rat, d'éventuels PE. Le but étant de développer un test de criblage robuste, reproductible et pertinent, capable de détecter les composés ayant une activité oestrogénique, antioestrogénique, androgénique ou antiandrogénique.

- **Test Utérotrrophique** : Ce test a pour but de détecter les substances à activité oestrogénique ou antioestrogénique. Des rats femelles immatures ou ovariectomisées sont traités quotidiennement pendant 3 jours avec le composé à tester, généralement par voie sous cutanée ou orale. Ce test repose sur les variations du poids de l'utérus induites par les substances testées. Un protocole standard international a été mis en place après plusieurs phases de validation (Kanno *et al.* 2001; Kanno *et al.* 2003a, 2003b) (<http://www.oecd.org>).

- **Test Hershberger ou test sur rats immatures** : ces tests ont pour but de détecter les substances ayant une activité androgénique ou antiandrogénique. Des rats mâles castrés ou immatures sont traités quotidiennement avec le composé à tester pendant 10 jours. Ces tests reposent sur les variations de poids des tissus sexuels accessoires induites par les substances testées. Les organes sexuels analysés sont les vésicules séminales, la prostate ventrale, le gland pénien, le muscle bulbo-caverneux et les glandes de Cooper. En absence d'androgènes endogènes, cas d'animaux immatures ou adultes castrés, l'administration d'androgène est nécessaire à l'initialisation (immaturité) ou à la restauration (castration) de la croissance des tissus sexuels accessoires. Ainsi, lorsqu'un composé permet d'induire la croissance de tissus androgène-dépendant, il est considéré comme androgène. A l'inverse, lorsqu'il induit une réduction de la croissance des tissus sexuels accessoires, après co-administration avec un composé à activité androgénique, il est identifié comme antiandrogène. A l'heure actuelle, les tests pratiqués sur animaux immatures ou animaux castrés sont en cours d'évaluation au niveau de l'OCDE afin de s'assurer qu'ils sont capables de détecter des composés ayant une activité androgénique ou antiandrogénique (Kennel *et al.* 2004; Owens *et al.* 2006).

- **Etude de toxicité après administrations répétées pendant 28 jours (OCDE, ligne directrice 407 améliorée).** Ce test a pour objectif de détecter chez des rats mâles et femelles tous les composés ayant des propriétés de PE et ceci quelque soit leur mode d'action. Ces études apportent des informations sur les risques potentiels du composé testé sur la santé à la suite d'une exposition répétée. Un certain nombre de paramètres sont mesurés tels que, l'évaluation du poids et l'histologie de tissus et glandes endocrines (ovaires, utérus, thyroïde, hypophyse, testicules, prostate, épидидyme, vésicules séminales), le dosage d'hormones ou encore l'analyse du sperme. Contrairement aux tests précédents, les animaux utilisés dans ce test sont sexuellement matures en fin d'étude (Andrews *et al.* 2001).

Les validations de ces tests, coordonnées par l'OCDE, ont permis de définir les conditions particulières de réalisation de ces études, mais également de montrer leur efficacité sur plusieurs molécules de référence. La reproductibilité de ces tests a été démontrée par les travaux provenant de plusieurs laboratoires et l'ensemble de ces validations a donné lieu à de nombreuses publications. On peut noter que le FM a souvent été utilisé comme molécule de référence dans l'évaluation du test Hershberger, du test sur rats immatures et de la ligne directrice 407 améliorée (O'Connor *et al.* 1998; Andrews *et al.* 2001; O'Connor *et al.* 2002; Kunimatsu *et al.* 2004).

Aujourd'hui, sous la pression d'organismes variés tels que les mouvements de protection des animaux ainsi que l'émergence de la règle des 3R (Remplacer, Réduire et Raffiner l'expérimentation animale), l'amélioration des méthodes de screening existant par l'utilisation d'animaux immatures à la place d'animaux ayant subi une intervention chirurgicale, ainsi que la mise en place de nouveaux tests prédictifs alternatifs apparaît être nécessaire.

6.2 Les nouveaux outils « -omiques »

L'identification de molécules potentiellement néfastes pour l'Homme s'effectue classiquement par des études de toxicologie chez l'animal de laboratoire. Les toxicologues évaluent les risques potentiels résultant de l'exposition à un composé par l'observation de paramètres conventionnels tels que le changement de poids de l'individu ou de ses organes, les modifications macroscopiques et microscopiques de tissus cibles et les dosages biochimiques. Ces approches donnent des indications sur les conséquences de l'exposition à ce produit chimique mais n'apportent pas d'explications sur la cause de la toxicité, sur les

mécanismes d'action du toxique ou sur les conséquences cellulaires et moléculaires que peut induire le toxique. Par ailleurs, la conduite de telles études de toxicologie, dites conventionnelles, est généralement longue, nécessitant l'utilisation de très nombreux animaux d'espèces différentes (rat, souris, lapin, chien...) ainsi qu'une quantité importante de substances à tester, ce qui rend ces études relativement coûteuses. Depuis quelques années, les avancées récentes du séquençage entier de génome de nombreux organismes modèles (Levures, Nématode, Drosophile) ou encore du génome Humain (McPherson *et al.* 2001; Venter *et al.* 2001), de la Souris (Gregory *et al.* 2002) et du Rat (Gibbs *et al.* 2004), ont permis le développement de nouvelles technologies (génomique, transcriptomique, protéomique et métabonomique) permettant une analyse au niveau moléculaire. Ces approches sont à l'heure actuelle de plus en plus prisées par le domaine de la Toxicologie.

6.2.1 La Toxicotranscriptomique

Ce type d'approche est basé sur le concept que tout effet toxicologique est la conséquence d'une modification du niveau d'accumulation d'un certain nombre de transcrits. Si le génome est identique dans chacune des cellules d'un organisme donné, en revanche, les transcrits, eux, peuvent avoir un niveau d'accumulation spécifique différencié dans le temps (propre à un stade du développement), dans l'espace (propre à un type cellulaire, tissulaire ou organique) ou/et caractéristique d'un état donné (normal, pathologique ou en réponse à un stimulus particulier). L'étude du niveau d'accumulation des transcrits consiste à caractériser et quantifier les produits d'expression de l'ADN correspondant aux ARN messagers (ARNm) et constituant le transcriptome, de manière à identifier, dans un tissu, dans un état et à un moment donné, les séquences actives du génome et donc à révéler le niveau d'accumulation des transcrits dont elles sont issues.

Cette analyse qualitative et quantitative est réalisée à l'aide de puces à ADN. Le concept de biopuce est né dans les années 1990. Il repose sur une technologie pluridisciplinaire intégrant la micro-électronique, la chimie des acides nucléiques, l'analyse d'images et la bioinformatique. Le principe de la puce à ADN est basé sur la technique d'hybridation entre une sonde et une cible. Des oligonucléotides (fragments d'ADN simples brins) spécifiques de différents gènes ou d'EST (Expressed Sequence Tags) sont greffés sur un support solide (lame de verre) et constituent les sondes dont le rôle est de détecter des cibles présentes dans un mélange complexe à analyser. Ces cibles correspondent aux ARNm extraits de cellules, tissus ou organismes entiers, et convertis en ARN complémentaire (ARNc) marqués avec des fluorophores spécifiques. Les signaux d'hybridation sont détectés par fluorescence, et quantifiés à l'aide d'un scanner. L'analyse transcriptomique est décrite en détail dans la partie matériel et méthode.

Les progrès dans le domaine de la miniaturisation ont permis, ces dernières années, d'augmenter le nombre de séquences d'ADN greffées sur une seule lame de verre, permettant l'analyse de plusieurs dizaines de milliers de gènes en une seule analyse.

La toxico-transcriptomique, discipline en plein essor, allie la transcriptomique (étude des produits des gènes) et la toxicologie. Cette approche permet l'étude du niveau d'accumulation des transcrits potentiellement modulé suite à l'exposition d'un organisme à un xénobiotique. L'étude de l'effet global d'un produit chimique au niveau moléculaire et l'identification des événements moléculaires (perturbation de voies métaboliques) impliqués dans les modifications phénotypiques observées par des méthodes conventionnelles de toxicologie, sont aujourd'hui possibles.

De nombreux projets émergent aux Etats Unis et en Europe, visant à développer et valider l'utilisation de la toxico-transcriptomique dans l'évaluation du risque associé aux toxiques environnementaux. En 2000, le National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS) a créé le National Center for Toxicogenomics (US NCT). Leurs objectifs sont de promouvoir l'utilisation des technologies «-omiques», d'identifier des biomarqueurs potentiels de toxicité et de créer une base de données publique regroupant les effets de substances retrouvées dans l'environnement potentiellement toxiques sur les systèmes biologiques (www.niehs.nih.gov/nct/concept.htm). En Europe, l'ECVAM (European Center for the Validation of Alternative Methods) élabore un programme de validation adapté à ces nouvelles technologies. Un certain nombre de paramètres devront être évalués comme par exemple les différences entre plateformes d'analyse, le degré de variabilité acceptable, la reproductibilité intra- et inter- laboratoires, la procédure d'analyse des données, le matériel de référence utilisé pour standardiser la méthode (<http://ecvam.jrc.it/>).

Par l'utilisation de ces nouvelles approches, l'étude des effets d'un grand nombre de molécules de référence, ayant une toxicité bien connue sur l'expression des gènes, doit permettre l'établissement de bases de données avec des profils d'induction/répression spécifiques de chaque classe de toxique. Sur la base d'analyse avec les profils d'expression des produits de référence, il sera alors possible de prédire l'effet potentiellement toxique d'une nouvelle molécule. En effet, des études préliminaires suggèrent que l'expression des gènes est souvent prédictive des altérations phénotypiques observées à long terme. Les différentes classes de molécules toxiques semblent pouvoir être caractérisées par un profil d'expression génique qui leur est propre : on parle de signature génique prédictive de toxicité. De plus, l'analyse conjointe des modifications phénotypique et de l'expression des gènes suite à l'exposition à un xénobiotique, permettra de mieux comprendre le mécanisme

d' action de ce composé au niveau moléculaire et d' identifier de potentiels biomarqueurs de toxicité (Merrick and Bruno 2004).

Dans le domaine des PE, de plus en plus d' études tentent d' élucider l' effet des antiandrogènes sur l' appareil reproducteur mâle, au niveau moléculaire. En effet, l' effet toxique de ces molécules est aujourd' hui bien caractérisé par l' utilisation d' approches conventionnelles mais leurs mécanismes d' action sont encore mal connus.

Le groupe de Kevin W. Gaido a utilisé l' approche puce à ADN pour essayer de comprendre par quels mécanismes les phtalates induisent leurs effets antiandrogéniques sur l' appareil reproducteur male. En comparant le profil d' expression génique du testicule de rats traités *in utero* avec du di(*n*-butyl) phthalate (DBP) ou avec du FM, Shultz et collaborateurs ont montré que ces 2 composés modulent de façon identique ou spécifique diverses voies métaboliques lors du développement du testicule (Shultz *et al.* 2001). Cette approche de toxico-transcriptomique a permis l' identification de mécanismes potentiels par lesquels le DBP induit ses effets antiandrogéniques sur le testicule, après une exposition foétale (Shultz *et al.* 2001) ou pré-pubère (Lahousse *et al.* 2006).

La comparaison des profils d' expressions géniques de testicules foetaux traités *in utero* par un panel de phtalates, a également permis de révéler un certain nombre de voies métaboliques primordiales au bon développement du testicule et apporte de nouveaux éléments dans la compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans le Syndrome de Dysgénésie Testiculaire (TDS) (Liu *et al.* 2005).

D' autres études ont été menées dans le but de mieux comprendre le rôle des androgènes et du AR lors du développement foetal du testicule et leurs implications dans la régulation des fonctions testiculaires telles que la spermatogenèse. L' effet de la testostérone sur l' expression des gènes testiculaires a été évalué chez des souris déficientes en GnRH (mutant naturel *hpg*) ou sexuellement immatures (Sadate-Ngatchou *et al.* 2004; Zhou *et al.* 2005). Par ailleurs, Mu et collaborateurs ont comparé les profils d' expressions des gènes du testicule de rat traité *in utero* par 4 antiandrogènes agissant au niveau du récepteur aux androgènes (FM ; Vinclozoline, Linuron et p,p'-DDE) (Mu *et al.* 2006).

Les résultats obtenus dans ces différentes études, utilisant cette approche de toxico-génomique, apparaissent être prometteur mais nécessite encore des analyses complémentaires afin de comprendre les mécanismes complexes mis en jeu au niveau des fonctions testiculaires.

6.2.2 La Toxico-protéomique

L'analyse des modifications induites sur les protéines est une approche complémentaire à l'analyse du niveau d'accumulation de transcrits pour la recherche des effets de xénobiotiques au niveau moléculaire. L'information sur les niveaux d'accumulation des ARNm n'est pas suffisante pour étudier et analyser la régulation de l'expression des gènes dans la cellule. Les données sur les niveaux d'accumulation des protéines (protéome) sont souvent plus informatives. En effet, ce qui est primordial dans une cellule, c'est souvent le niveau d'accumulation et le degré d'activité des protéines, qui se trouvent fréquemment modulés et régulés par des modifications post-traductionnelles.

Alors que le génome est constant (aux mutations somatiques près) dans toutes les cellules d'un organisme, le protéome (tout comme le transcriptome) varie d'un type cellulaire à l'autre et selon la situation physiologique et de développement dans laquelle se trouve chaque cellule. Ainsi, un même individu possède simultanément, non pas un protéome, mais de très nombreux protéomes. Une grande partie des variations de fonctionnement d'une cellule s'expliquerait par la modulation du niveau d'accumulation des protéines, par la présence ou l'absence de certaines d'entre elles, par les modifications post-traductionnelles qui les affectent ainsi que par les nombreuses interactions pouvant s'établir entre elles.

L'intérêt principal des études du niveau d'accumulation des protéines est d'être focalisé directement sur les éléments fonctionnels des cellules et des tissus. De plus, le degré de corrélation observé entre les abondances relatives d'un certain nombre de protéines et des ARNm correspondant montre que cette approche moléculaire est complémentaire de la toxico-transcriptomique (Merrick and Madenspacher 2005).

La standardisation de la technique d'électrophorèse bidimensionnelle (2-DE) associée à la puissance analytique de la spectrométrie de masse (SM) permet une analyse globale de l'ensemble des protéines présentes dans une cellule ou un tissu donné.

L'électrophorèse bidimensionnelle a été introduite en 1975 (O'Farrell 1975). Cette technique est pour le moment la seule méthode fiable pour étudier l'abondance et les modifications post-traductionnelles de plusieurs centaines de protéines en parallèle. Depuis quelques années, la résolution et la reproductibilité des résultats générés par cette méthode ont été considérablement améliorées. Cette technique permet de séparer des protéines contenues dans les extraits cellulaires ou tissulaires. Après coloration, les spots (protéines) sont analysés par des logiciels spécialisés capables de comparer leurs intensités et donc leurs niveaux d'accumulation. Une analyse par spectrométrie de masse permet ensuite d'identifier une protéine d'intérêt et ses modifications en mesurant la masse des peptides,

issus d'une digestion enzymatique, caractéristique de chacune des protéines (Yates 2004). En comparant le spectre de masse des fragments de protéolyse et les bases de données de séquences, il est possible d'identifier la protéine analysée. L'analyse protéomique est décrite en détail dans la partie « matériel et méthode ».

Bien que cette technique montre quelques limitations (difficulté de résolution des protéines possédant des propriétés d'hydrophobicité, des points isoélectriques et des charges extrêmes), elle s'est révélée très puissante et sensible, permettant la détection d'effets spécifiques d'un état donné (Wetmore and Merrick 2004).

L'application de la protéomique à la toxicologie est à ses débuts. La toxico-protéomique permet l'analyse des modifications de l'ensemble des protéines d'un tissu ou d'un organisme exposé à un toxique. Comme la toxico-transcriptomique, elle contribue à améliorer la compréhension des mécanismes mis en jeu et à identifier des marqueurs de toxicité. L'analyse du protéome par la méthode classique (gel bidimensionnel couplé à une analyse par spectrométrie de masse) prend en compte les modifications post-traductionnelles des protéines, comme les phosphorylations, glycosylations, etc., qui ne sont pas accessibles par une analyse transcriptomique. Par contre cette approche est techniquement plus complexe, plus longue et plus fastidieuse que celle du transcriptome. De plus, les méthodes actuellement utilisées pour analyser les protéines n'ont pas la capacité de haut débit, ni la reproductibilité et l'automatisation nécessaires pour être aujourd'hui associées de manière acceptable dans une perspective d'analyse à grande échelle.

La protéomique est principalement utilisée en toxicologie dans le but d'identifier des biomarqueurs potentiels de toxicité (Wetmore and Merrick 2004). Le foie ainsi que les bio-fluides (plasma, sérum, urine) sont les principales cibles étudiées par cette approche. Quelques études décrivent l'analyse du profil d'accumulation de protéines testiculaires suite à une exposition à des composés connus pour être toxiques au niveau de l'appareil reproducteur mâle (Witzmann *et al.* 2003; Yamamoto *et al.* 2005). En revanche, très peu de données publiées décrivent l'utilisation d'une analyse protéomique dans le cadre de l'étude des effets des PE. Lee D-Y et collaborateurs ont analysé les protéines différentiellement régulées dans une lignée de cellules de Sertoli de souris après une exposition à du bisphénol A (Lee *et al.* 2004). Les protéines identifiées dans ces études peuvent être potentiellement utilisées comme biomarqueurs lors de l'évaluation de la toxicité de composés en développement, au niveau de l'appareil reproducteur mâle.

❧ RESULTATS ❧

❧ RESULTATS ❧

Ce travail de thèse s'est principalement articulé autour de deux études conventionnelles de toxicologie. L'objectif étant d'évaluer l'apport de nouveaux outils « -omiques » dans des études de toxicologie conventionnelles permettant une meilleure compréhension du mécanisme d'action par lequel un antiandrogène de référence, le flutamide, induit des effets toxiques sur l'appareil reproducteur mâle, et d'apprécier la valeur ajoutée apportée par ces approches protéomique et transcriptomique développés au cours de ce travail.

Ainsi, nous avons tout d'abord réalisé une étude de toxicité sub-aigüe suivant la ligne directrice 407 améliorée de l'OCDE (www.oecd.org). L'effet du FM, antiandrogène modèle, a été évalué sur l'appareil reproducteur de rats mâles, après 28 jours consécutifs de traitement. En nous référant à la littérature, nous avons utilisé trois niveaux de doses de FM connues pour affecter le niveau de la LH et de la testostérone plasmatique, et capables d'induire des altérations au niveau de l'appareil reproducteur mâle. Le protocole de cette étude est détaillé dans la publication 1. Globalement, 6 rats par groupe sont gavés quotidiennement pendant 28 jours avec 0 (contrôle), 6, 30 et 150 mg/kg/j de FM. Les poids de différents organes cibles et la concentration plasmatique de la LH et de la testostérone sont mesurés après les 28 jours de traitement. Une analyse histologique du testicule est également effectuée. Parallèlement à ces observations conventionnelles, des analyses protéomiques (électrophorèse bidimensionnelle) et transcriptomiques (puce à ADN) sont réalisées à partir du testicule. Les protocoles utilisés pour ces analyses sont détaillés dans la partie « matériels et méthodes ».

L'objectif de cette étude était d'évaluer la capacité de ces outils « -omiques » à apporter de nouveaux éléments concernant le mécanisme d'action du FM au niveau du testicule, nous permettant ainsi de mieux comprendre les mécanismes moléculaires par lesquels les androgènes régulent les fonctions testiculaires. Par ailleurs, nous souhaitons corréler les résultats issus des analyses conventionnelles d'une part et les analyses protéomique et transcriptomique d'autre part, afin de valider ces nouvelles approches jusqu'alors très peu utilisées dans des études de toxicologie conventionnelles.

Les résultats de toxicologie de l'étude sub-aigüe de 28 jours ainsi que les résultats de l'analyse protéomique à la forte dose de FM sont présentés dans la publication 1, page 72. Les résultats supplémentaires de l'analyse protéomique sont présentés page 73 et les résultats de l'analyse transcriptomique de cette étude page 80.

Etant confronté à des résultats relativement complexes, nous avons réalisé une étude de toxicité aiguë afin de simplifier notre modèle d'étude. En effet, une analyse à des temps courts après une administration unique du FM devait nous permettre d'éviter la complexité de réponse obtenue après 28 jours de traitement répété et probablement due aux nombreux effets simultanés du FM sur l'organisme exposés. Des rats mâles ont reçu une seule dose de FM (150 mg/kg) par gavage et ont été sacrifiés 1 h, 2 h, 8 h, 24 h et 48 h après cette administration unique. De la même façon que dans l'étude sub-aiguë, les poids de l'hypophyse, de la prostate ventrale et du testicule, ainsi que la concentration de la LH et de la testostérone sont mesurés. Une analyse histologique du testicule est également effectuée. Des analyses protéomique et transcriptomique sont réalisées à partir du testicule à différents temps de sacrifice, selon les protocoles détaillés dans la partie « matériels et méthodes ».

L'objectif de cette étude consistait à décrire les effets pharmacologiques précoces du FM sur les testicules nous permettant d'appréhender les mécanismes d'action de cet antiandrogène au niveau de l'appareil reproducteur mâle, mais également à évaluer la capacité des outils « -omiques » à détecter des modulations des profils d'accumulation de transcrits et/ou de protéines, en l'absence de toute lésion tissulaire apparente, permettant une prédiction des effets du FM observés au niveau du testicule après une exposition répétée à plus long terme.

Les résultats conventionnelles de toxicologie de l'étude aiguë sont présentés page 99, les résultats de l'analyse protéomique sont présentés page 102 et les résultats de l'analyse transcriptomique page 109.

Par ailleurs, nous avons également réalisé une étude de toxicité *in utero*. Des rates gestantes ont été gavées quotidiennement du 10^{ème} jour de gestation (GD10) jusqu'à la mise bas (GD21 ou 22), période de différenciation sexuelle masculine, avec 0 (contrôle), 0.4, 2 et 10 mg/kg/j de FM. Les rats mâles de la portée ne sont soumis à aucun traitement après leur naissance et sont sacrifiés à l'âge de 90 jours. Nous avons développé un modèle de co-culture avec des cellules de Sertoli isolées de rats non traités ou traités *in utero* au FM, auxquelles sont ajoutées des cellules germinales issues de rats adultes indemnes de tout traitement.

L'objectif de cette étude était d'essayer de comprendre les mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine des altérations de l'appareil reproducteur constatées à la suite d'une exposition à des antiandrogènes pendant le développement fœtal. Nous nous sommes concentrés sur le phénomène d'apoptose chronique des cellules germinales de rats adultes exposés au FM au cours de leur vie fœtale, ainsi que sur le rôle que pouvait avoir les cellules de Sertoli dans ce processus apoptotique des cellules germinales adultes.

Nous avons analysé le signal androgénique reçu par les cellules testiculaires en évaluant le niveau plasmatique de différentes hormones agissant sur les cellules de Sertoli, le nombre de cellules de Sertoli ainsi que le niveau d'expression du récepteur aux androgènes et de plusieurs transcrits connus pour être spécifiquement exprimés dans les cellules de Sertoli adultes.

Les résultats de cette étude sont présentés dans la publication 2, page 126.

1. Etude sub-aigüe de 28 jours

1.1 Publication 1

Dans les études de toxicité conventionnelles, les effets adverses d'un composé sur l'appareil reproducteur mâle sont habituellement caractérisés par l'évaluation de paramètres tels que le changement de poids d'organes cibles (prostate, testicules ou épидидyme), les modifications macro- et microscopiques de certains tissus, et la mesure du niveau de certaines hormones (Andrews *et al.* 2001; Okahara *et al.* 2000). Le profil toxique ainsi généré apporte des indications sur les conséquences de l'exposition à ce produit mais ne donnent pas ou peu d'explication sur la cause de la toxicité, sur les mécanismes d'action du toxique ou sur les répercussions de l'exposition au niveau cellulaire et moléculaire.

Depuis quelques années, l'application de nouvelles technologies (génomique, transcriptomique, protéomique et métabonomique) à la Toxicologie émerge. La toxico-protéomique permet l'étude du niveau d'accumulation de nombreuses protéines issues d'un tissu ou organe, potentiellement modulées à la suite d'une exposition à un xénobiotique, ainsi que l'identification des événements moléculaires (voies métaboliques) impliqués dans les modifications phénotypiques observées par des approches conventionnelles (Merrick and Bruno 2004; Wetmore and Merrick 2004).

L'objectif de cette étude est d'évaluer la capacité d'une analyse protéomique (par électrophorèse bidimensionnelle) à générer des profils d'accumulation protéiques en accord avec les observations toxicologiques conventionnelles, ainsi que d'apprécier la valeur ajoutée apportée par cette approche protéomique, permettant une meilleure compréhension du mécanisme d'action, au niveau moléculaire, par lequel le FM induit des effets toxiques sur l'appareil reproducteur mâle. Nous avons utilisé un composé antiandrogénique de référence, le FM, dont les effets pharmacologiques et toxiques sur l'appareil reproducteur mâle sont aujourd'hui bien caractérisés par des approches conventionnelles (Andrews *et al.* 2001; Kunitatsu *et al.* 2004; Toyoda *et al.* 2000).

Comme attendu, nous avons constaté une inhibition de la stimulation des tissus androgène-dépendant, une augmentation du niveau plasmatique de la LH et de la testostérone ainsi qu'une hyperplasie des cellules de Leydig. Le FM semble également être capable de moduler de nombreuses protéines participant à la stéroïdogénèse, au cycle cellulaire, au cancer, ainsi qu'à la spermatogénèse. La corrélation des résultats issus des analyses conventionnelles et des profils d'accumulation de nombreuses protéiques nous a ainsi permis de valider cette nouvelle approche jusqu'alors très peu utilisées dans des études de toxicologie conventionnelles. De plus, ces données moléculaires, nous ont permis d'émettre des hypothèses sur l'effet du FM au niveau des fonctions testiculaires.

Correlation between Protein Accumulation Profiles and Conventional Toxicological Findings Using a Model Antiandrogenic Compound, Flutamide

Claire Friry-Santini,*† David Rouquié,* Philippe Kennel,* Helen Tinwell,* Mohamed Benahmed,† and Rémi Bars*¹

*Bayer CropScience, Research Toxicology, Sophia-Antipolis, France and †Faculté de Médecine Lyon Sud, INSERM U407, Oullins, France

Received December 11, 2006; accepted February 11, 2007

In conventional rodent toxicity studies the characterization of the adverse effects of a chemical relies primarily on gravimetric, and histopathological data. The aim of this study was to evaluate if the use of two-dimensional gel electrophoresis could generate protein accumulation profiles, which were in accordance with conventional toxicological findings by investigating a model antiandrogen, flutamide (FM), whose toxic effects, as measured using standard approaches, are well characterized. Male Sprague-Dawley rats were orally exposed to FM (0, 6, 30, and 150 mg/kg/day) for 28 days. The expected inhibition of androgen-dependent tissue stimulation, increased luteinizing hormone and testosterone plasma levels, and Leydig cell hyperplasia were observed. Changes in testicular protein accumulation profiles were evaluated in rats exposed to 150 mg/kg/day FM. Several proteins involved in steroidogenesis (e.g., StAR, ApoE, Hmgcs1, Id1), cell cycle, and cancer (e.g., Ddx1, Hspd1) were modulated by FM, and these data provided molecular evidence for the hormonal and testicular histopathology changes recorded. Changes in proteins associated with spermatogenesis were also recorded, and these are discussed within the context of the testicular phenotype observed following FM treatment (i.e., normal spermatogenesis but Leydig cell hyperplasia). Overall, our data indicate that the combination of conventional toxicology measurements with omic observations has the potential to improve our global understanding of the toxicity of a compound.

Key Words: antiandrogen; flutamide; testis; proteomics; two-dimensional gel electrophoresis.

In conventional toxicity studies, the identification of male reproductive toxicity relies on the measurement of weight changes in the reproductive tract (e.g., testis, prostate, and epididymis), on macroscopic and histological findings, and/or changes in hormone levels or sperm parameters (Andrews *et al.*, 2001; Okahara *et al.*, 2000). Based on these phenotypic

changes, the generated toxicity profiles correspond to the consequences of compound exposure. However, to understand the underlying cause of the toxicity and the molecular targets involved, more refined approaches are required. Previously, this would require the use of such techniques as immunohistochemistry, western blotting, qPCR analysis of specific genes or proteins, and the use of many individual studies, each designed to investigate one particular biochemical pathway or a specific enzyme. However, with recent advances in technology, we now have the opportunity to take a more comprehensive approach.

For several years, new “omics” tools, such as genomics, proteomics, and metabonomics, have emerged, which have the potential to provide new insights into toxicological studies. With these tools, we can now explore the global effect of a chemical at the molecular level and we have the ability to identify the molecular events (e.g., perturbation of biological pathways) that lead to the overt phenotypic changes (Leighton, 2005; Merrick and Bruno, 2004; Rockett, 2001; Wetmore and Merrick, 2004). Moreover, correlations between molecular events and the resultant phenotypic changes have the potential to provide very compelling and robust data concerning the mode of action of a chemical. In addition, such data could lead to the identification of biomarkers pertinent to the toxic effects.

The application of proteomics to toxicology is in its infancy (Wetmore and Merrick, 2004). For example, previous studies performed on the testis have been mainly focused on the characterization of proteins expressed in spermatogenic cells using two-dimensional gel electrophoresis (2-DE) (Chen *et al.*, 2001; Com *et al.*, 2003; Cossio *et al.*, 1995, 1997; Flickinger *et al.*, 2001; McKinnell *et al.*, 1995), and only in a few cases have these tools been used to investigate testicular toxicity (Witzmann *et al.*, 2003; Yamamoto *et al.*, 2005). Thus, the aim of the present study was to evaluate if 2-DE would be able to generate protein accumulation profiles, which were in accordance with conventional toxicological findings (e.g., organ weight changes, histopathological findings, and/or hormone-level changes) recorded in the rat following compound exposure. To achieve this, we used a model antiandrogenic

¹ To whom correspondence should be addressed at Bayer CropScience, 355 rue Dostoevski, 06903 Sophia-Antipolis, France. Fax: 33 (0)4-93-95-84-54. E-mail: remi.bars@bayercropscience.com.

compound, flutamide (FM), whose effects in the rat testis have been well described in the literature. FM is a nonsteroidal antiandrogen, which is able to bind to the androgen receptor (AR); consequently, it can disturb the actions of endogenous androgens and can, therefore, give rise to reproductive organ toxicity (Peets *et al.*, 1974; Simard *et al.*, 1986; Viguier-Martinez *et al.*, 1983). Although the toxic effects of FM are well characterized using conventional toxicity end points (Andrews *et al.*, 2001; Kunimatsu *et al.*, 2004; Okahara *et al.*, 2000; Toyoda *et al.*, 2000), little is known concerning changes occurring at the molecular level in the testes of FM-treated rats (Kubota *et al.*, 2003; Ohsako *et al.*, 2003). Furthermore, only very few studies have reported proteomic analyses with 2-DE on the antiandrogen FM (Cayatte *et al.*, 2006; Pitkanen-Arsiola *et al.*, 2006; Whitaker *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2004). In accordance with a study duration typically used for compound evaluation in toxicology, male rats were treated daily for 28 days at various doses of FM (6, 30, and 150 mg/kg/day) by oral gavage to establish dose-response curves for the phenotypic changes (*i.e.*, tissue weight changes, histopathological and hormonal changes). We then performed, for the first time, a global protein expression analysis on testicular tissue from control and treated rats using 2-DE. However, although 2-DE was performed on testicular samples from all treated animals, the omic work was mainly focused on testicular protein accumulation modulations detected at the high-dose level (150 mg/kg/day) FM to allow the interpretation of the molecular data and their correlation with the phenotypic changes.

Indeed, we have been able to detect changes at the molecular level (*i.e.*, biological pathways affected), which are in accordance with the histopathological and hormonal changes observed in treated animals. In addition, the data generated in this study provided indications as to why we, as well as other investigators (Andrews *et al.*, 2001; Kunimatsu *et al.*, 2004; Toyoda *et al.*, 2000), have been unable to detect any apparent histopathological changes on spermatogenesis in the testis following a 28-day exposure to FM.

MATERIALS AND METHODS

Animals and housing. The study was performed in accordance with The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (Council, 1996). Male Sprague-Dawley (Ico-OFA-SD) rats (4 weeks of age on arrival) were purchased from Charles River Laboratories (St Germain-sur-l'Arbresle, France) and were acclimatized for 16 days. Each animal was individually housed in a stainless steel wire mesh cage under controlled environmental conditions (20°C–24°C, 40–70% relative humidity) with a 12-h light/dark cycle. Drinking water and pelleted rodent diet (Scientific Animal Food and Engineering, Epinay-sur-Orge, France) were available *ad libitum*. Prior to treatment, rats, judged to be in good health, were assigned to a group by the stratified randomization method based upon the body weight on the day before the initiation of administration, so that there was no significant variation in mean body weights among the groups.

Dosing and experimental design. FM (CAS no. 034K1459; Sigma, St. Quentin Fallavier, France) was administered in suspension to rats (6 weeks

old, six per group) orally by gavage at a daily dose of 0 (control), 6, 30, or 150 mg/kg body weight, for 28 days, using a dose volume of 5 ml/kg body weight. Methylcellulose in sterilized water (0.5% w/vol) was used as the vehicle for all FM dosing solutions. Clinical observations were performed daily, and body weights and physical examinations were recorded weekly. Twenty-four hours after the last dose, all animals were sacrificed by isoflurane (T.E.M., Lormont, France) inhalation followed by exsanguination under deep anesthesia. Terminal blood samples were collected from each animal and were placed into tubes containing lithium heparin. After centrifugation, plasma samples were removed and stored at –80°C until hormone analysis. At necropsy, the following organs were excised from each rat, trimmed free of fat and connective tissue, and weighed: brain, kidney, liver, prostate (ventral and dorsolateral), testes, seminal vesicles, and epididymides. All paired organs were weighed together with the exception of the testes and epididymides, which were weighed separately. For each left testis, the capsule (tunica albuginea) was removed after which, the testis was cut into three equal parts and each resulting fraction was flash-frozen in liquid nitrogen and stored at –80°C.

Histopathology. The right testis was fixed for 72 h in 10% neutral-buffered formalin fixative (for possible further analyses by *in situ* hybridization). Paraffin-embedded tissue was prepared, sectioned at ~5 µm, and stained with hematoxylin (Sigma, St Quentin Fallavier, France) and eosin (Merck, Fontenay-sous-Bois, France) for histological examination. The tissue sections were examined under light microscopy. The severity of Leydig cell hyperplasia was graded from minimal to marked as follows—minimal (grade 1): an increase of Leydig cells within the interstitial space; slight (grade 2): an increase of Leydig cells with complete replacement of the interstitial space; moderate (grade 3): an increase of Leydig cells with complete replacement of the interstitial space and presence of bridging strands of Leydig cells surrounding the seminiferous tubules (one or two cell layers); and marked (grade 4): an increase of Leydig cells with complete replacement of the interstitial space and presence of bridging strands of Leydig cells surrounding the seminiferous tubules (more than two cell layers). Effects on spermatogenesis were also evaluated.

Hormone measurements. Testosterone and luteinizing hormone (LH) levels were determined on individual plasma samples using specific radioimmunoassay kits (Beckman Coulter, Villepinte, France for testosterone and Amersham, Orsay, France for LH).

Two-dimensional gel electrophoresis. Proteomic analysis was performed using total testicular proteins samples isolated from the left testis of individual animals, from all groups. Reagents and chemicals were mainly from Sigma-Aldrich-Fluka (St Quentin Fallavier, France). A frozen testicular sample from each animal was homogenized in lysis buffer (7M urea, 2M thiourea, 4% 3-[(3-cholanidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS) (w/vol), 0.24% Triton X-100 (vol/vol), 20mM spermine, and 50mM diethiothreitol) using a Dounce homogenizer. After incubating for 1 h at room temperature, 100mM iodoacetamide was added to each sample, and the mixtures were incubated for a further 3 h at room temperature in the dark. After centrifugation, the protein concentration of each resulting supernatant, diluted to 1/6, was determined using the modified Bradford protein assay (Ramagli and Rodriguez, 1985) using bovine serum albumin diluted in lysis buffer, as the standard. The protein concentration of each sample was then adjusted to 4 mg/ml prior to being aliquoted and stored at –80°C.

Just prior to 2-DE, each testicular protein extract was diluted to 1 mg/ml using a rehydration buffer comprising 7M urea, 2M thiourea, 4% CHAPS, 0.24% Triton X-100, 0.6% bio-lyte, pH 3–10, ampholyte, 0.3% bio-lyte, pH 5–8, ampholyte (bio-lyte ampholyte 40%, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France), 50 mM diethiothreitol, and 0.001% bromophenol blue as a tracking dye. The isoelectric focusing (IEF) step was carried out using a Protean IEF Cell (Bio-Rad). Precast immobilized pH gradient (IPG) strips (ready-strip IPG strips pH range 5–8, 17 cm long, Bio-Rad) were rehydrated with 400 µl (400 µg) of total testis protein and incubated for 22 h at 20°C (passive sample loading). Then, proteins were focused successively for 2 h at 50 V, 15 min at 250 V, followed by a slow (5 h) voltage ramping to 10,000 V, and focusing was continued at 10,000 V up to 80,000 Vh. All IEF steps were carried out at 20°C under low-viscosity

oil. After the first-dimension IEF, the IPG strips were incubated at room temperature for 30 min in an equilibration buffer (0.375M Tris-HCl [pH 8.8], 6M urea, 20% glycerol, 4% sodium dodecyl sulfate [SDS]) containing 65mM dithiothreitol. A second equilibration step was carried out for 40 min under the same conditions, except that dithiothreitol was replaced by 135mM iodoacetamide and 0.001% bromophenol blue was added as a tracking dye. The equilibrated strips were then loaded onto 10% SDS-polyacrylamide gels (PAGE), with a stacking gel of 2 cm of 4% SDS-PAGE placed on the top. IPG strips were sealed with 1% low melting point agarose to ensure good contact between the IPG strips and the gel. The second dimension of 2-DE was carried out using the E-tan Daltis Electrophoresis Unit (Amersham, Orsay, France) connected to a PowerPac 1000 power supply (Bio-Rad). The electrophoresis was performed at 10°C with Tris-glycine buffer (25mM Trizma base, 192mM glycine, and 0.1% SDS) at a constant power of 5 W per gel for 30 min followed by 12.5 W per gel until the tracking dye reached the bottom of the gel. After separation, proteins were visualized by staining the gels with colloidal Coomassie blue stain as recommended by the manufacturer (Blue SafeStain Invitrogen, Cergy Pontoise, France).

Image acquisition and analysis. Gels were digitalized using the GS-800 calibrated densitometer (Bio-Rad), high-resolution scanner. The protein pattern of each gel (six gels per dose level; one gel per testis sample) was compared using the PD-Quest image analysis system (version 7.2, Bio-Rad). Briefly, after automatic spot detection, the images were edited manually, for example, adding, splitting, and removing spots. Automatic matching of spots on each gel was then performed. For each dose, a match set consisting of 12 images, six for control and six for treated rat testis gels was prepared. This resulted in the creation of three independent match sets (one for each dose level). For each match set, one control gel was selected (based on gel and spot quality) as the master gel against which all remaining gels were matched. For each gel, the intensity of each protein spot was normalized to the total intensity of the entire gel. The accumulation level of each protein was quantified by determining the intensity of each spot. Then the six individual gels from each treatment group were combined into groups for statistical analysis, and differences in protein accumulation between control group and treated group, for each dose level, were assessed. A change in spot intensity was considered to be an indication of the up- or down-accumulation of protein. Thus, protein spots with a statistically significant change in protein accumulation level were obtained for each match set. A number of these protein spots were selected for protein identification based on the quantity (intensity) of the protein spot (i.e., ability to see the spot on the gel) as well the quality of the spot on the gel (i.e., no streaking or overlapping with neighboring spots). Automatic determination of the experimental relative molecular mass (M_r) and isoelectric point (pI) values for each selected protein spots was performed by PD-Quest using standard protein markers (Bio-Rad).

In-gel tryptic digestion and protein identification by mass spectrometry. The protein spots of interest were manually excised from the 2-DE gel. Each protein sample was further processed by enzymatic digestion with trypsin to generate peptides fragment (Cayatte *et al.*, 2006). Mass spectra were recorded with a matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight (MALDI-ToF) spectrometer (Voyager DE-PRO, PerSeptive Biosystems, Framingham, MA) set in positive reflectron mode. Peptide mass profiles obtained by MALDI-MS were analyzed using Protein Prospector. Peptide masses were compared with the theoretical masses derived from the sequence contained in SWISS-PROT/TrEMBL databases or deduced from the nCBI Data Bank. The search parameters were set as follows: cysteine as carbamidomethyl derivative; allowed peptide mass error, 50–100 ppm; at least four peptide mass hits required for protein match; up to one missed cleavage; and methionine-oxidized form. Restrictions were placed neither on species of origin, pI, nor on protein mass range.

To confirm peptide mass fingerprinting results and when peptide mass fingerprinting could not unambiguously identify a protein, samples were analyzed by nano ESI-MS/MS (static infusion) on a LCQTM XP-PRO mass spectrometer (ThermoQuest, San Jose, CA). Nano ES capillaries (ES 381, PROXEON Biosystems, Odense, Denmark) were used as emitter (Cayatte *et al.*, 2006).

Functional analysis. Functional classification of proteins modulated by FM treatment among the different metabolic pathways and subcellular location was based on Gene Ontology using rat genome database (<http://rgd.mcw.edu>), Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) encyclopedia (<http://www.genome.ad.jp/kegg/genes.html>) and Ingenuity Pathways Analysis (IPA) (Ingenuity Systems, <http://www.ingenuity.com>). IPA mapped each modulated protein to its corresponding gene object (e.g., genes, mRNAs, and proteins) in the Ingenuity Pathways Knowledge Base (IPKB). These genes, called "focus gene" were overlaid onto a global molecular network developed from information contained in the IPKB and were used as the starting point for generating biological networks, based on their connectivity. The functional analysis of a network identified the biological functions and/or diseases that were most significant to the genes in the network. The network associated with biological functions and/or diseases in the IPKB was considered for the analysis. Genes mapped to biological networks available in the IPKB were ranked by score. The score is the probability that a collection of genes equal to or greater than the number in a network could be achieved by chance alone. A score of 3 indicates that there is a 1/1000 chance that the focus genes are in a network due to random chance. Therefore, scores of 3 or higher have a 99.9% confidence level of not being generated by random chance alone. This score, was used as the cutoff for identifying gene networks significantly affected by FM.

Statistical analyses. Statistical analyses on body and organs weights and hormonal parameters were performed as previously described (Kennel *et al.*, 2004). For proteomic analysis, the mean protein intensity of control group was compared to the mean protein intensity of each treated group using the Mann-Whitney test. Statistical tests were performed at $p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$ of significance using PD-Quest software (version 7.2, Bio-Rad).

RESULTS

Body and Sex Organ Weights

FM was not overtly toxic to rats at any dose level investigated. However, a significant decrease ($p \leq 0.01$) in body weight gain was recorded for those animals treated at 150 mg/kg/day FM (Table 1). Although the testicular weight was not affected following FM treatment, a dose-related decrease in most of the sex organs and accessory tissues was recorded, with statistically significant differences observed for the seminal vesicles, ventral and dorsolateral prostate, and the epididymides (Table 1). As the tissue weights were significantly ($p \leq 0.05$, $p \leq 0.01$) decreased at doses where the body weight was not adversely affected, these atrophic effects were considered to be treatment related.

Histopathology and Hormone Levels

A treatment-related change in the testicular interstitial space, identified as Leydig cell hyperplasia (Fig. 1), was recorded in all treated groups. Both the severity (minimal to marked) and incidence of this lesion increased in a dose-related manner (Table 2). No significant morphological differences were observed in the seminiferous tubules between control and treated animals indicating that spermatogenesis was apparently not affected by treatment.

At sacrifice, dose-related increases in the mean plasma levels of LH and testosterone were recorded (Fig. 2). At 6 mg/kg/day FM treatment, only testosterone was significantly ($p \leq 0.01$)

TABLE 1
Effects of FM on Mean Absolute Body Weight, Sex Organs, and Accessory Tissue Weights

	Control	FM (mg/kg/day)		
		6	30	150
Body weight (g) (% body weight gain between study day 1 and day 28)	128 ± 15	119 ± 17 (-7%)	123 ± 15 (-4%)	93 ± 18 (-27%**)
Seminal vesicle (g)	1.35 ± 0.36	0.90 ± 0.12 (-33%)	0.58 ± 0.19* (-57%)	0.13 ± 0.03** (-90%)
Ventral prostate (g)	0.60 ± 0.16	0.44 ± 0.04 (-26%)	0.24 ± 0.04* (-61%)	0.12 ± 0.07** (-80%)
Dorsal prostate (g)	0.13 ± 0.04	0.13 ± 0.04	0.09 ± 0.04 (-27%)	0.03 ± 0.02** (-76%)
Right epididymis (g)	0.59 ± 0.04	0.49 ± 0.06* (-17%)	0.43 ± 0.04** (-27%)	0.24 ± 0.07** (-59%)
Left epididymis (g)	0.56 ± 0.05	0.48 ± 0.07 (-14%)	0.43 ± 0.03** (-23%)	0.27 ± 0.09** (-52%)
Right testis (g)	1.71 ± 0.11	1.71 ± 0.06	1.82 ± 0.08 (+6%)	1.64 ± 0.47 (-4%)
Left testis (g)	1.74 ± 0.11	1.72 ± 0.08	1.81 ± 0.09 (+4%)	1.64 ± 0.44 (-5%)

Note. Data are presented as the mean ± SD. Values in parenthesis refer to the percentage of weight loss compared to control.

* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$.

affected (4.2-fold increased). Both testosterone and LH levels were significantly increased at 30 mg/kg/day FM, to 8.6-fold ($p \leq 0.01$) and 3.1-fold ($p \leq 0.05$), respectively, and at 150 mg/kg/day FM, to 12.3-fold ($p \leq 0.01$) and 10.3-fold ($p \leq 0.01$).

Proteomic Analysis

Whole testicular protein extracts from individual control and FM-treated (6, 30, and 150 mg/kg/day) rats were analyzed by 2-DE. Approximately 1500 protein spots were detected on each gel. A representative protein profile of rat testis treated with 150 mg/kg/day FM is shown in Figure 3.

Approximately 100 proteins were found altered at the high-dose level of 150 mg/kg/day based on their p -value ($p \leq 0.05$) of which the 44 most abundant proteins were selected for mass spectrometry protein identification (MALDI-ToF and/or ESI-MS/MS) (Fig. 3). For each of the identified proteins, the identification number on the gel, the accession number from SWISS-PROT/TrEMBL or nrNCBI, the protein and gene name, MOWSE scores, matched peptides and protein coverage from mass spectrometry analysis, cell type localization in rodents, and the mean normalized spot intensity ratio of treated to control, for each dose level, are presented in Table 3. For more than 97% of spots, protein sequence coverage of at least 15% was obtained. Moreover, in most cases, the experimental M_r and pI values from 2-DE gels were in agreement with the theoretical M_r and pI values of the identified proteins. Thus, a high degree of confidence in the identified protein spots was obtained. The magnitude of ratio changes ranged from 0.39 down-accumulation (alpha-1-antitrypsin, spot no. 2) to 6.32 up-accumulation (aldo-keto reductase 1, member B8, spot no. 40). Higher ratios were observed for one protein spot, retinal dehydrogenase (spot no. 43), as it was uniquely accumulated due to treatment. In addition, the majority of statistically significantly modulated protein spots at the highest dose level were up-accumulated in a dose-related manner as highlighted

in Figure 4. Among the identified proteins, few (e.g., spot no. 7, 17, or 28) were located in an unexpected position on the gel based on their M_r and pI theoretical values. Changes in M_r and pI are most probably attributed to posttranslational protein modifications, such as proteolytic cleavage, glycosylation, and phosphorylation. Furthermore, a number of different protein spots were identified as being the same protein. For example, spots nos. 23, 33, and 34 (Table 3) were identified as aldehyde dehydrogenase mitochondrial. These proteins could be degradation products or different isoforms of the same protein. Thus, from the original 44 spots selected for identification, a total of 39 individual proteins were identified.

Functional Analysis

Functional classification, according to cellular processes and the subcellular location of the identified proteins, was performed using Gene Ontology with the Rat Genome Database (<http://rgd.mcw.edu>), KEGG encyclopedia (<http://www.genome.ad.jp/kegg/genes.html>), and IPA (Ingenuity Systems, <http://www.ingenuity.com>). IPA was able to map the 39 modulated proteins at the high-dose level of FM to its corresponding gene object (e.g., genes, mRNAs, and proteins) in the IPKB. Focus genes for 32 of the 39 modulated proteins were overlaid onto a global molecular network developed from information contained in the IPKB. Networks of these focus genes were then algorithmically generated based on their connectivity. Biological pathways were assigned to each network and were ranked according to the significance of that biological function to the network. Three of the six networks identified were found to be highly significant in that they had more of the identified proteins present than would be expected by chance (Table 4). Lipid metabolism (34% of the identified proteins), that is, those cellular processes leading to the production of the major testicular androgen testosterone, was identified as the main biological pathway affected. Proteins

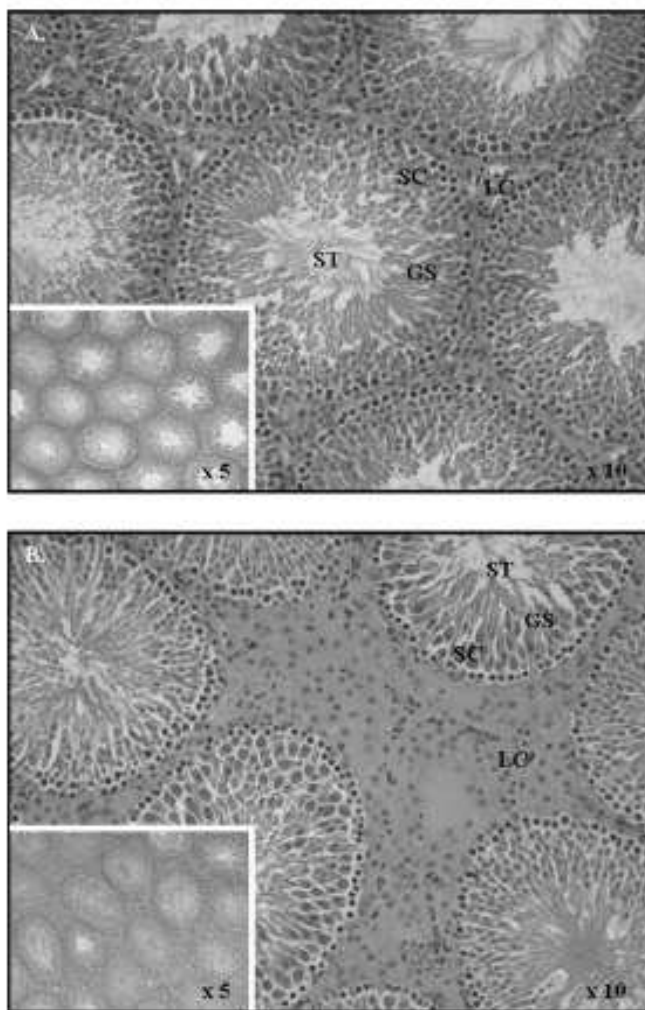


FIG. 1. Histopathological sections of adult rat testis. Sections were stained with hematoxylin-eosin for analysis. Leydig cell hyperplasia was observed in all FM treatment groups. (A) Control testis. (B) Testis section from a rat exposed to 150 mg/kg/day FM. ST: Seminiferous tubules; GS: Germ cells; SC: Sertoli cells; and LC: Leydig cells. Magnification $\times 10$ (slides) and $\times 5$ (inserts).

associated with this pathway included those involved in glycerolipid metabolism (aldose reductase, aldehyde dehydrogenase), in fatty acid metabolism (gonadotropin-regulated long-chain acyl-CoA synthetase; acyl-CoA dehydrogenase, long- and short-chain specific, mitochondrial; enoyl coenzyme A hydratase 1, peroxisomal; fatty acid-binding protein heart), in sterol biosynthesis (hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, cytoplasmic; similar to acetyl-CoA transferase-like; isopentenyl-diphosphate delta-isomerase 1; steroidogenic acute regulatory protein [StAR]; apolipoprotein E [ApoE]) and in retinoic acid biosynthesis (retinal dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase, mitochondrial). The second and third networks identified included proteins involved in carbohydrate metabolism and in cell cycle, cell death, and cancer. Figure 5A portrays the 39 modulated proteins at the high-dose level of FM

TABLE 2
Incidence and Severity of Leydig Cell Hyperplasia which Increased in a Dose-Related Manner

Dose (mg/kg/day)	0	6	30	150
	Leydig cell hyperplasia			
Minimal (grade 1)	0	4	1	0
Slight (grade 2)	0	1	3	1
Moderate (grade 3)	0	0	2	3
Marked (grade 4)	0	0	0	2
Total	0/6	5/6	6/6	6/6

Note. Data are presented as the number of animals affected in each group. Grading of severity is as described in Materials and Methods. Briefly, minimal (grade 1): increase of Leydig cells within the interstitial space; slight (grade 2): complete replacement of the interstitial space; moderate (grade 3): presence of bridging strands of Leydig cells surrounding the seminiferous tubules (one or two cell layers); and marked (grade 4) presence of bridging strands of Leydig cells surrounding the seminiferous tubules (more than two cell layers).

according to their subcellular location. The majority of proteins affected by the FM treatment were cytoplasmic whereas few were nuclear or secretory.

DISCUSSION

The pharmacological and toxic effects of the antiandrogen FM on the reproductive tract have been well characterized and described in the literature. In the present study, gravimetric, histological, and hormonal data were consistent with previously reported data (Andrews *et al.*, 2001; Kunimatsu *et al.*, 2004; Toyoda *et al.*, 2000; Viguier-Martinez *et al.*, 1983). More specifically, a dose-related inhibition of androgen-dependent tissue stimulation was recorded, as well as an increase in LH and testosterone plasma levels. In addition, histopathological observations in the testis showed Leydig cell hyperplasia in the absence of any visible effect on spermatogenesis, which is in agreement with previously reported histopathology and sperm analysis data following a 28-day FM treatment (Andrews *et al.*, 2001; Toyoda *et al.*, 2000). Thus, taken together, our results confirmed the expected antiandrogenic effect of FM on the male rat reproductive tract.

Having confirmed, phenotypically, the antiandrogenic effects of FM, we then performed global proteomic analyses to investigate those protein accumulation modulations in the testis following FM treatment to examine if there was a correlation between the testicular histopathological findings and the changes in protein profiles detected in treated animals. We focused, in the first instance, on the effect of the high-dose level of FM in order to maximize the level of modulation of the testicular proteins affected by the treatment. As expected, the severity and incidence of testicular lesions observed were found at their highest level at 150 mg/kg/day FM.

The accumulation levels of more than 100 testicular proteins were affected by 150 mg/kg/day FM, of which 44 proteins were

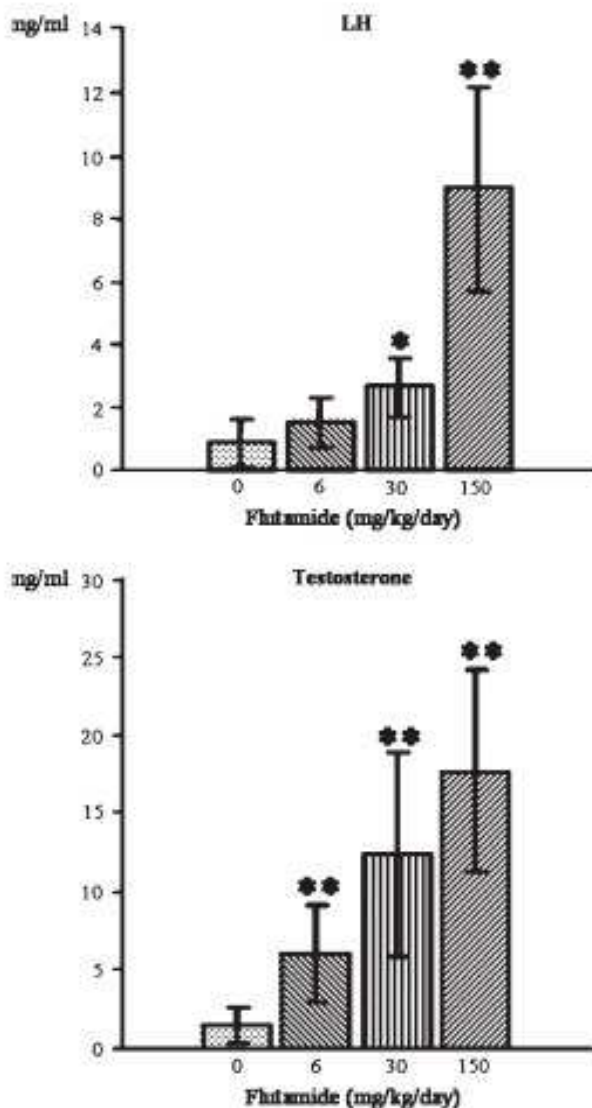


FIG. 2. Effect of FM treatment on plasma levels of LH and testosterone of adult male rats. Data are presented as mean hormone level (ng/ml) \pm SD. (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$).

identified by MALDI-MS and/or ESI-MS/MS (Table 3). These proteins were classified according to their cellular process and subcellular location (Table 4 and Fig. 5), and most of these proteins were found to be involved in lipid metabolism, or in cell cycle and cancer.

Several proteins, specific to Leydig cells in rodent testis and involved in steroidogenesis, were found to be modulated by treatment (Table 3 and Fig. 6). For example, StAR (spot no. 17) and ApoE (spot no. 1), which are associated with cholesterol transport and distribution, were upregulated in a dose-response manner. The StAR protein is involved in the transport of cholesterol to the inner mitochondrial membrane (Luo *et al.*, 1998), which is the first and rate-limiting step in steroid biosynthesis in the adrenals and gonads, and ApoE appears to

play a major role in the regulation and redistribution of cholesterol between tissues or among different cells within a tissue (Fofana *et al.*, 2000; Olson *et al.*, 1994). In addition to these two key steroidogenic proteins, five other proteins involved in fatty acid metabolism were modulated by treatment: gonadotropin-regulated long-chain acyl-CoA synthetase (GrIacs, spot no. 14), acyl-CoA dehydrogenase, long-chain-specific mitochondrial (Acadl, spot no. 29), acyl-CoA dehydrogenase, short-chain-specific mitochondrial (Acads, spot no. 30), enoyl coenzyme A hydratase 1 peroxisomal (Echl, spot no. 28), and fatty acid-binding protein heart (Fabp3, spot no. 9). Two additional proteins, also associated with steroidogenesis, were upregulated following FM treatment: hydroxymethylglutaryl-CoA synthetase cytoplasmic (Hmgcs1, spot no. 11), which belongs to the ketogenic pathway converting acetyl-CoA to HMG-CoA (a sterol biosynthesis precursor) (Mascaro *et al.*, 2000) and isopentenyl-diphosphate delta-isomerase 1 (Idi1, spot no. 10), which is involved in a crucial activation step in the isoprenoid biosynthetic pathway (Barella *et al.*, 2004).

Several proteins involved in carbohydrate metabolism (Fig. 6) were also identified, and it is likely that these participate indirectly in steroid biosynthesis as a source of energy and steroid precursors. As testes have a large requirement for cholesterol for the production of testosterone, it is conceivable that the up-accumulation of all these proteins (associated with steroidogenesis and carbohydrate metabolism) could lead to an increase in the cholesterol pool available for steroid biosynthesis. Moreover, measurements of mRNA transcription level of four of the steroidogenesis-related proteins (StAR, Fabp3, GrIacs, Hmgcs1) (real-time RT-PCR) confirmed that gene expressions for some of these proteins were also consistently upregulated by FM treatment (data not shown). Overall, several proteins involved, in a direct or indirect manner, in the steroidogenesis metabolic pathway were affected by FM, thus providing evidence, at the molecular level, for the hormone-related changes observed following FM treatment, namely the increase in plasma testosterone level.

A second group of proteins affected following FM treatment was found to be involved in cell cycle and cancer. Included in this group were transcription regulators carbonic anhydrase 2 (Ca2, spots nos. 39 and 41) and lamin A (Lmna, spot no. 24), the translation regulator, DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 1 (Ddx1, spot no. 44), chaperon proteins chaperonin 60 (Hspd1, spots nos. 3 and 4) and TNF receptor-associated protein 1 (Trap1, spot no. 20), as well as several potent antiproliferative proteins prohibitin (Phb, spot no. 7) and fatty acid-binding protein heart (Fabp3, spot no. 9). As all these proteins were upregulated due to FM treatment and correlated well with the observed histopathological lesions, that is, hyperplasia of the Leydig cells, they appear to be involved in cellular growth, proliferation, and differentiation processes.

Having established a good correlation between the phenotypic changes observed in the testis following FM exposure and

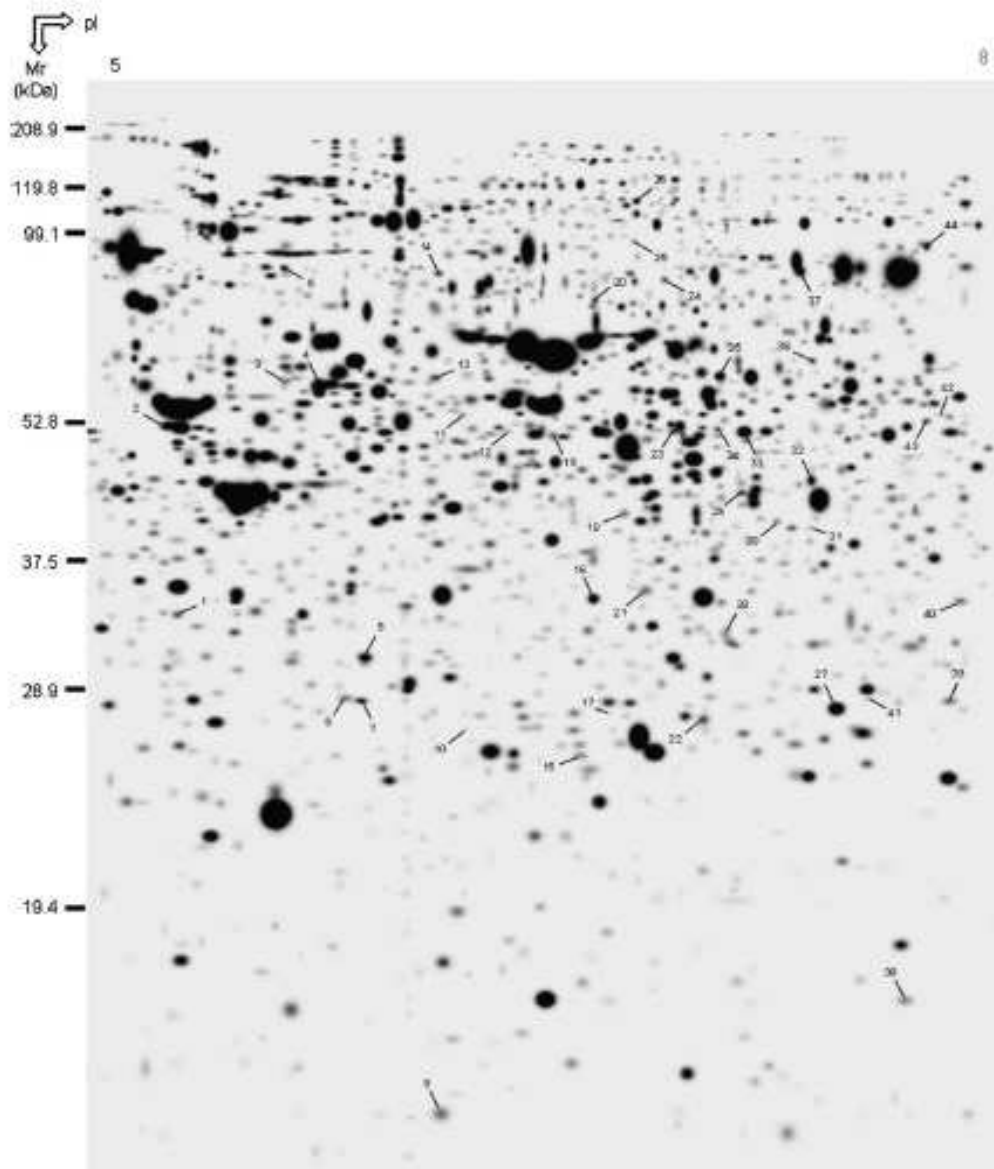


FIG. 3. Two-dimensional gel electrophoresis pattern of total protein spots from testis following FM treatment at 150 mg/kg/day. Total testicular proteins (400 μ g) were loaded and separated using IPG strips (pH 5–8)/SDS-PAGE (10% acrylamide). Gels were stained with Coomassie blue. Spot numbers refer to proteins with a modified accumulation level after FM treatment, which were selected for mass spectrometry identification (details are summarized in Table 3).

the corresponding molecular events, we turned our attention to other modulated proteins, in the hope that we would gain even further insight into the mode of action of FM.

For example, some proteins modulated by FM exposure were associated with spermatogenesis. We hypothesized that the modulation of some of these proteins could explain the testicular phenotype observed following FM exposure, that is, a normal spermatogenic process, despite the AR blockade and Leydig cell hyperplasia. We specifically focused on retinal dehydrogenase I (*Aldh1a1*) (spot no. 43) for several reasons. First, this enzyme is associated with the oxidation of different

aldehydes, including all-*trans* retinal to retinoic acid in the rat testis (Cavazzini *et al.*, 1996; Duester, 1996, 2000) and it is known that vitamin A (retinol) and its principal biologically active derivative, retinoic acid, are involved in the regulation of testicular functions in rodents (Livera *et al.*, 2002). Second, published data have demonstrated that retinoids can also increase the transcription and translation of several proteins implicated in the testicular functions (Livera *et al.*, 2002). Finally, retinoic acid has been shown to reinitiate spermatogenesis in vitamin A-deficient rats (van Pelt and de Rooij, 1991). Thus, in addition to an upregulation of *Aldh1a1*, we also

TABLE 3

A Detailed List of Protein Spots, Identified by MALDI-ToF or ESI-MS/MS, with Quantitative Changes Following FM Treatment

No. on gel ^a	Accession no. ^b /protein name (gene name)	Score/matched peptides (%) ^c /protein coverage (%) ^d	Theoretical M_r (10^{-3}) (Da)/pI	Experimental M_r (10^{-3}) (Da)/pI	Treated vs. control ^e (6 mg/kg/d)	Treated vs. control ^e (30 mg/kg/d)	Treated vs. control ^e (150 mg/kg/d)	Localization ^f
1	P02650/apolipoprotein E [precursor] (ApoE)	$1.64 \times 10^5/14$ (23)/44	35.75/5.23	33.05/5.38	0.86	0.95	1.60*	L
2	P17475/alpha-1-antitrypsinase [precursor] (SerpinA1)	549/19/33	46.11/5.70	51.09/5.35	0.74	0.90	0.39*	T
3	1778213/chaperonin 60 (Hspd1)	$4.52 \times 10^4/12$ (31)/18	60.95/5.91	58.46/5.71	1.22	1.60*	3.68**	L, S, G
4	1778213/chaperonin 60 (Hspd1)	$2.18 \times 10^{10}/24$ (20)/52	60.95/5.91	57.50/5.82	1.69	1.35	2.92**	L, S, G
5	62647466/inner membrane protein, mitochondrial (Inmt)	$2.84 \times 10^{13}/28$ (37)/33	92.27/5.74	84.67/5.71	1.00	0.81	1.47*	
6	34877556/predicted: similar to 6-phosphogluconolactonase (Pglb predicted)	$5.59 \times 10^9/13$ (24)/57	30.82/6.38	28.08/5.90	1.06	1.32	1.46*	G
7	34873234/predicted: similar to prohibitin (Pbh)	$5.29 \times 10^9/8$ (13)/19	47.67/5.79	27.96/5.95	1.26**	1.13	1.35*	L, S, G
8	P48500/triosephosphate isomerase (Tpi1)	$2.15 \times 10^8/14$ (16)/72	26.92/6.45	30.4/5.99	0.55	0.59	0.40**	L, S, G
9	P07483/fatty acid-binding protein, heart (Fabp3)	$3.18 \times 10^7/8$ (34)/55	14.77/5.90	13.37/6.20	—	—	1.62*	L, G
10	O35760/isopentenyl-diphosphate delta-isomerase 1 (Idi1)	$8.94 \times 10^6/8$ (13)/41	26.40/5.57	26.57/6.28	1.40*	1.83*	2.98*	T
11	P17425/hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, cytoplasmic (Hmgcs1)	$6.9e + 006/14$ (10)/26	57.43/5.59	52.53/6.27	1.87	4.29**	2.45*	L
12	7248632/4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase (Aldh9a1)	427/13/29	54.53/6.57	50.36/6.40	1.32	2.05*	2.21*	G
13	34877803/myo-inositol 1-phosphate synthase A1 (Loc 290651)	$2.72 \times 10^7/14$ (11)/28	60.88/5.73	59.11/6.18	0.95	1.33	1.46*	S, G
14	19705503/gonadotropin-regulated long-chain acyl-CoA synthetase (GrIacs)	$2.49 \times 10^{14}/30$ (35)/45	80.52/5.65	83.21/6.19	1.06	1.47	3.27**	L
15	11968132/peroxiredoxin-3 (Prdx3)	$3.66 \times 10^8/8$ (12)/28	28.32/7.15	25.33/6.63	1.72	3.34**	4.20**	
16	15100179/malate dehydrogenase 1, NAD (soluble) (Mdh1)	$2.78 \times 10^9/8$ (13)/26	36.48/6.16	34.11/6.67	1.13	1.41*	1.47*	S, G
17	P97826/steroidogenic acute regulatory protein, mitochondrial [precursor] (StAR)	$2.67 \times 10^5/9$ (16)/37	31.50/8.93	27.33/6.72	0.66	6.92	5.33**	L
18	62078971/ubiquitin-like domain containing CTD phosphatase 1 (Ublcp1)	196/5/15	36.96/6.07	41.2/6.78	1.18	1.23	0.42*	
19	11560095/aldehyde dehydrogenase family 9, subfamily A1 (Aldh9a1)	$1.29 \times 10^5/14$ (15)/34	54.53/6.57	49.91/6.55	0.97	1.38	2.30*	G
20	34868689/TNF receptor-associated protein 1 (Trap1)	$5.17 \times 10^5/11$ (12)/20	80.46/6.56	76.12/6.68	0.90	2.99**	1.73**	
21	P07943/aldehyde reductase (Akr1b1)	$3.93 \times 10^5/8$ (11)/25	35.79/6.26	34.20/6.82	1.40*	1.16	5.97**	S, G
22	P08010/glutathione S-transferase Mu 2 (Gstm2)	$8.5e + 014/28$ (27)/86	25.70/6.91	27.02/7.02	1.09	1.79	5.02**	L, G
23	P11884/aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor] (Aldh2)	$3.08 \times 10^6/11$ (13)/24	56.49/6.63	50.39/6.92	—	1.57	2.90**	T, G
24	P48679/lamin A (Lmna)	$1.29 \times 10^5/14$ (13)/19	74.32/6.54	81.48/6.90	1.00	1.34	1.72**	L, S, G
25	38454250/loss of heterozygosity 11 chromosomal region 2 gene A protein homolog (Loh11cr2a)	177/4/9	92.28/6.18	92.53/6.80	1.31	1.58	1.83*	T
26	62945278/hypothetical protein LOC360975 (Ogdhe1)	847/22/26	117.42/6.30	107.08/6.81	1.09	1.70**	1.89**	
27	P25113/phosphoglycerate, mutase 1 (Pgam1)	$2.62 \times 10^6/9$ (16)/38	28.64/6.19	27.55/7.43	0.93	1.41*	1.37*	G
28	12018256/enoyl coenzyme A hydratase 1, peroxisomal (Ech1)	346/9/28	36.18/8.13	31.8/7.09	0.79	1.41	1.28*	T

TABLE 3—Continued

No. on gel ^a	Accession no. ^b /protein name (gene name)	Score/matched peptides (%) ^c /protein coverage (%) ^d	Theoretical M_r (10^{-3}) (Da) ^e /pI	Experimental M_r (10^{-3}) (Da)/pI	Treated vs. control ^f (6 mg/kg/d)	Treated vs. control ^f (30 mg/kg/d)	Treated vs. control ^f (150 mg/kg/d)	Localization ^g
29	P15650/acyl-CoA dehydrogenase, long-chain specific, mitochondrial [precursor] (Acadl)	$7.22 \times 10^{10}/20$ (42)/42	47.87/7.63	43.31/7.14	2.38**	2.64**	3.27**	
30	P15651/acyl-CoA dehydrogenase, short-chain specific, mitochondrial [precursor] (Acads)	$7.47 \times 10^{10}/19$ (35)/67	44.76/8.47	40.38/7.25	1.32	1.94**	1.75**	
31	34853775/acetyl-CoA acetyltransferase 2 (Acat2)	$1.44 \times 10^8/10$ (19)/19	68.70/6.18	39.79/7.35	0.88	3.10*	2.95**	
32	P41562/isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic (Idh1)	$6.31 \times 10^8/22$ (30)/54	46.73/6.53	44.67/7.35	1.61	2.10	2.09*	T
33	P11884/aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor] (Aldh2)	$3.83 \times 10^7/12$ (21)/29	56.49/6.63	50.32/7.14	1.47	1.47	1.64*	T, G
34	P11884/aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor] (Aldh2)	$1.88 \times 10^6/6$ (12)/15	56.49/6.63	50.71/7.06	—	—	5.98**	T, G
35	P13697/NADP-dependent malic enzyme (Me1)	$2.17 \times 10^7/17$ (17)/33	64.00/6.49	59.47/7.07	1.11	2.25**	1.86*	T
36	Q6LPE1/electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase [precursor] (Etfdh)	$5.32 \times 10^3/6$ (6)/15	68.19/7.33	62.58/7.36	1.52	3.05**	2.39**	
37	P12346/serotransferrin [precursor] (Tf)	$1.14 \times 10^{13}/34$ (39)/48	76.36/6.94	83.81/7.32	0.76	1.19	2.01*	S
38	66910535/Rib-66 protein (Rib66)	444/18/82	19.79/6.79	16.4/7.68	—	0.93	0.56*	G
39	P27139/carbonic anhydrase 2 (Ca2)	$5.17 \times 10^{10}/14$ (17)/63	29.11/6.89	27.93/7.78	1.75	2.17	3.00**	L
40	27465603/aldo-keto reductase 1, member B8 (Akr1b8)	$1.1 \times 10^7/14$ (66)/49	36.19/7.08	33.93/7.82	1.11	2.03*	6.32**	
41	9506445/carbonic anhydrase 2 (Ca2)	118/3/22	29.11/6.89	27.95/7.52	1.21	2.25	2.14*	L
42	29293813/pre-B cell colony-enhancing factor 1 (Pbef1)	$3.81 \times 10^6/13$ (23)/29	55.44/6.69	52.57/7.75	0.95	1.05	1.96**	
43	P51647/retinal dehydrogenase 1 (Aldh1a1)	$2.67 \times 10^8/13$ (18)/29	54.46/7.95	51.73/7.71	33.05*	64.44**	129.44**	L, S
44	61097941/DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 1 (Ddx1)	837/18/28	83.41/6.81	91.10/7.71	1.07	1.26	1.83*	

^aProteins spots were located in master gel (Fig. 3).

^bAccession numbers of proteins were from SWISS-PROT databases or nrNCBI Data Bank.

^cMatched peptide represents the number of peptides that matched the input peptide mass within the specified mass tolerance.

^dProtein coverage represents the number of amino acids found in sequence that match up to the sequence of the protein in question and is expressed as a percentage of the length (in amino acids) of the whole protein sequence.

^eProtein spots were quantified by PD-Quest software analysis. Ratio represents mean normalized optical densities of treated to control protein spots or inverse (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, Mann-Whitney test).

^fCell-type localization based on bibliographic reference articles; L: Leydig cell, S: Sertoli cell, G: Germ cell, T: Testis.

identified a number of significantly modulated proteins that are regulated by retinoids, for example, StAR (spot no. 17), serotransferrin (Tf, spot no. 37), and cytochrome P450c17 (Cyp17a1) (Lefevre *et al.*, 1994) (change observed by qPCR analysis—data not shown). Thus, based on our own observations, coupled with previously published data, it is conceivable that the normal spermatogenic process observed in the testes following 28-days FM treatment could be, at least partially, due to the increase in Aldh1a1 leading ultimately to an increase in retinoic acid concentration. However, further experiments are necessary to confirm this hypothesis.

Finally, some proteins modulated following FM exposure could not be related to the observed hormone-level changes or histopathological lesions in the testis. Thus, further investigations will be necessary to understand their roles and implications in the Leydig cell hyperplasia or other treatment-related changes not readily detected by histopathology.

Two-dimensional electrophoresis proved to be a reliable and powerful tool to evaluate molecular changes in rat testes following FM treatment. Indeed, data generated in this laboratory have indicated that similar testicular protein profiles can be obtained from similar experiments in rats treated

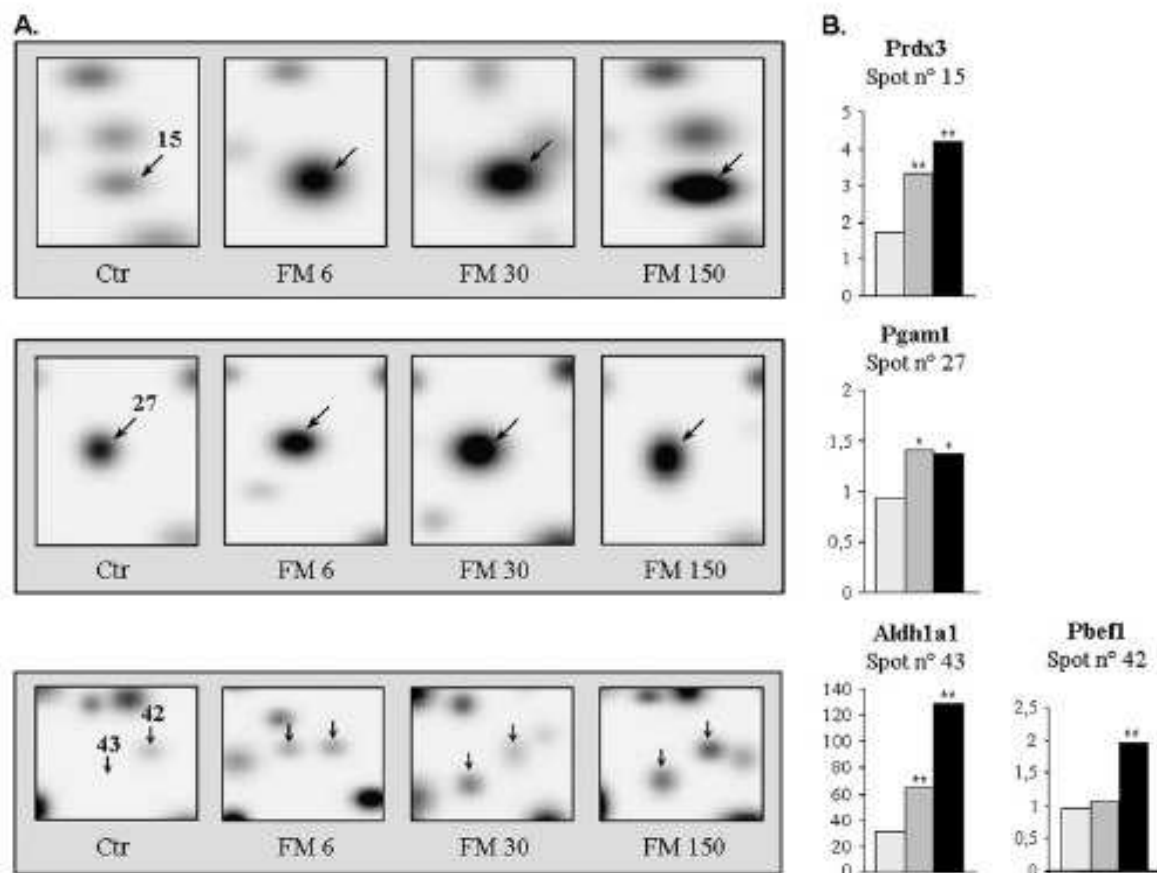


FIG. 4. The effects of increasing FM concentration on protein accumulation. (A) Zoom-in regions of typical 2-DE demonstrate the effect increasing FM concentration has on the accumulation of representative proteins (spots nos. 15, 27, 42, and 43 [absent in control gels]). Ctr: control; FM 6: 6 mg/kg/day FM; FM 30: 30 mg/kg/day FM; FM 150: 150 mg/kg/day FM. (B) Histograms corresponding to the mean normalized spot intensity ratios (treated:control) illustrate more clearly the effects of increasing FM concentration. Data are expressed as the normalized average optical density derived from the PD-Quest software analysis and are based on group sizes of 6. White bars: FM 6; gray bars: FM 30; and black bars: FM 150. Prdx3 (peroxiredoxin-3), Pgam1 (phosphoglycerate mutase 1), Aldh1a1 (retinal dehydrogenase 1), and Pbef1 (pre-B cell colony-enhancing factor 1 homolog). (* $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, derived from Mann-Whitney test of individual spot intensities).

with FM conducted 1 year apart, demonstrating the reproducibility of the data. However, this technique does have some limitations. For example, proteins with a high molecular weight or with pI values that fall at the extremities of the pH gradients (very acidic or basic proteins) are difficult to resolve on a gel. Furthermore, it is well known that proteins of low abundance or certain classes of proteins, such as integral membrane proteins or nuclear proteins, are underrepresented on classic 2-DE (Gorg *et al.*, 2004; Rabilloud, 2002). In fact, our data generated by the IPA tool (Fig. 5A) indicated that the majority of proteins altered by FM treatment were cytoplasmic or secreted; very few or none were found in the nucleus or the membrane. Whereas the analysis of low-abundance proteins could probably be improved by fractionating the testis and purifying the various cell types before proteomic analysis (Ahmed and Rice, 2005), the nuclear and membrane proteins will be clearly difficult to analyze. However, the use

of the IPA tool could allow us to overcome these limitations. Specifically, the identification of the altered protein spots, the analysis of networks, and the describing of functional relationships between gene products reported in literature could provide clues as to other gene products also altered by FM treatment, which cannot be detected by 2-DE. For example, Hspd1, StAR, Aldh1a1, Acat2 (acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 2, spot no. 31) or Akr1b8 (aldo-keto reductase family 1, member B8, spot no. 40) were modulated following FM treatment and all interact, either directly or indirectly, with the transcription factors Jun or retinoic acid nuclear receptor RXR/RAR (Fig. 5B), which would themselves be difficult to detect by 2-DE. It would appear therefore that these transcription factors, as well as other poorly expressed gene products belonging to the same signaling cascade, could also be affected by FM treatment. However, this hypothesis remains to be tested using western blot or specific qPCR

TABLE 4
Three of the six networks identified by IPA were found to be highly significant.

Network	Proteins in ingenuity network	Score ^a	Focus genes	Associated biological pathways
1	ACADL, ACADS, ALDH7A1, APOE, CA2, CP, CREM, DF, ECH1, ETFDH, FCER2, FDX1, GHRL, GSTM2, HSPD1, HSPE1, IDH1, IFNG, IL15, IL12A, IL12B, IL1B, KITLG, LEP, LIPE, NRIH2, PBEF1, PGLS, PRTN3, SCARB1, SCL4A1, STAR, STAT4, TBX21, TF	26	14	Lipid metabolism, molecular transport, and small molecule biochemistry
2	ACAT2, AKAP1, AKR1B1, AKR1B8, ALDH2, ALDH1A1, ALOX12, CCL2, CTNNA1, DDX1, FGF1, FGF2, FGF4, GAPD, HGF, HNF4A, HOXA9, JUN, LMNA, MMP1, MMP7, MMP12, MMP14, NFE2L2, NR2F1, NR2F2, NR1P1, OGDH1, PGAM1, PRSS11, SERPINA, SPP1, TCF1, TRIM28, YWHAZ	19	11	Gene expression, cancer, and tissue development
3	BAX, CCND3, CGA, COL1A1, CYCS, E2F2, E2F5, EEF1G, EGF, ESRR, FABP3, FASN, GAPD, GAS, HMGAL, HMGSC1, HNRK, HSPD1, ICAM1, IDH1, ITGA3, ITGB1, ME1, MYC, MYCN, NME1, PGD, PHB, PPARA, PPIA, PRDX3, PRL, TGFA, THRB, VCAM1	14	9	Cell cycle, cellular growth and proliferation, and developmental disorder
4	MDH1, SERPINB5	2	1	Cancer, cell cycle, and cell death
5	AOF2, IMMT	2	1	Gene expression
6	ODF1, ODF2, YBX2	2	1	Cellular development, reproductive system development and function, and organ development

Note: Bold proteins are those modulated by FM and identified by 2-DE/MS. These proteins are call "focus genes."

^aA score of > 3 was considered significant ($p < 0.001$).

analyses. Nevertheless, the combination of protein profiles and IPA investigations may help to identify new genes altered by the FM treatment and so provide further insights into the toxic mode of action of FM.

In summary, we detected changes in testicular protein accumulation of rats treated with a high dose of FM, a known antiandrogenic compound. Alterations in the protein profiles showed that specific metabolic pathways were affected and that

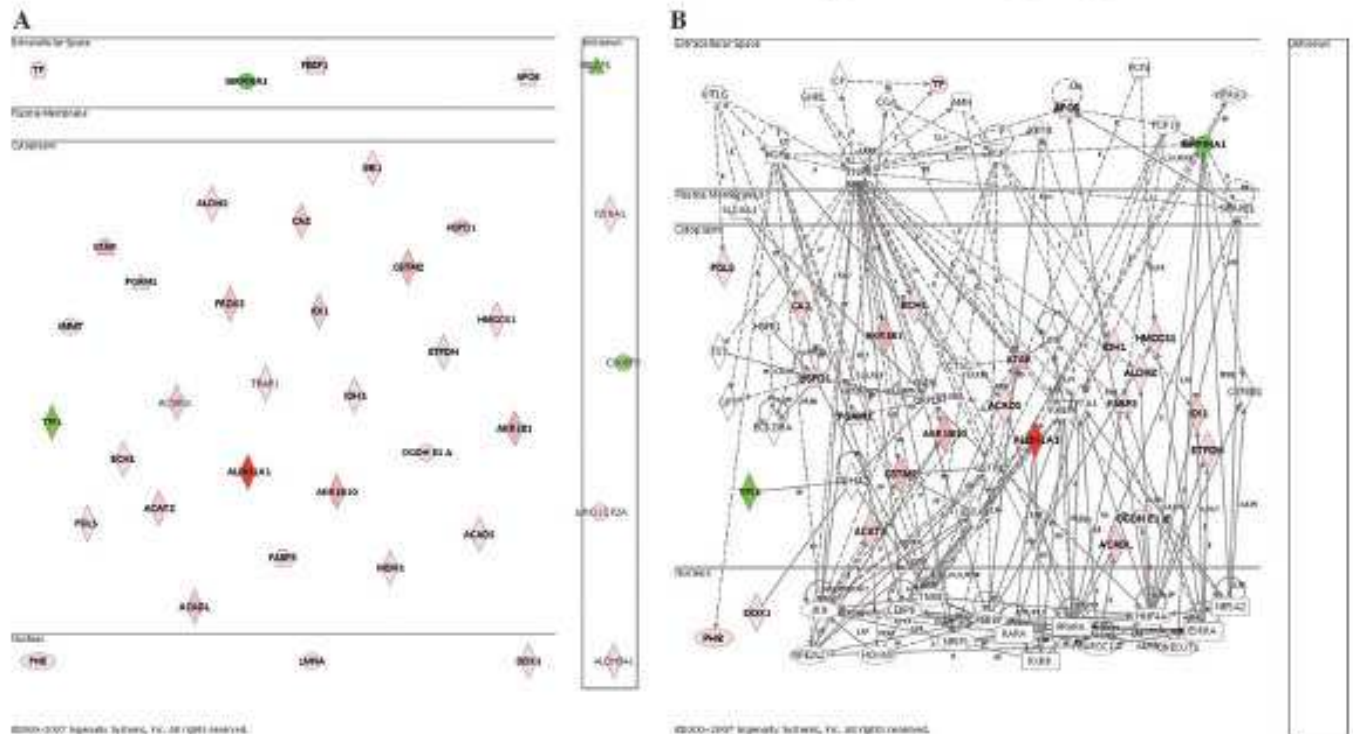


FIG. 5. Functional analysis of proteins modulated upon high-dose level FM treatment using IPA. (A) Subcellular location of the 39 modulated proteins mapped in the IPKB. The intensity of the node color indicates the degree of increased (red) or decreased (green) accumulation induced by FM exposure. (B) Merging network of the two first networks found to be affected by FM.

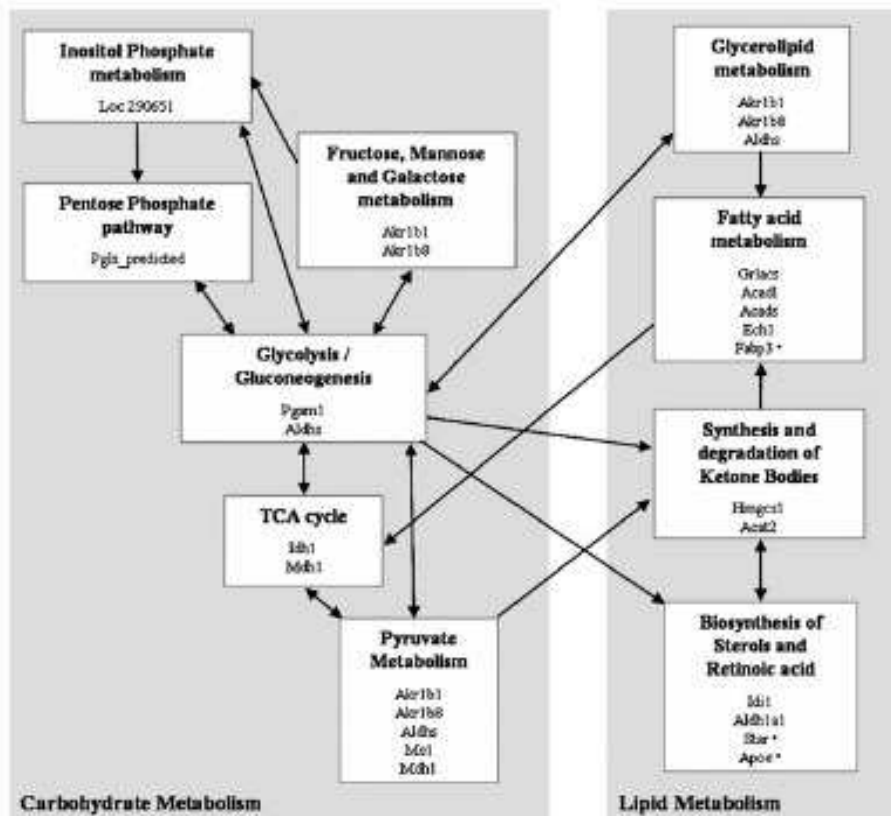


FIG. 6. Schematic representation metabolic pathways with proteins modulated following FM treatment and involved, directly or indirectly, in lipid metabolism. ●, Protein transport.

these molecular changes could be correlated with the hormone-level changes and the testicular histopathological changes following FM treatment. Thus, evidence for the testicular toxicity due to a high dose of FM was obtained at the molecular level as well as phenotypically, leading to an improved understanding of the global changes induced by FM in the testis.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Michel Samson, INSERM 638, Nice, for MS analysis; Laëticia Elies for histopathological expertise; and Céline Katz for bioinformatic analysis. The first author was recipient of a fellowship co-sponsored by the "Association Nationale de la Recherche Technique" and Bayer CropScience.

REFERENCES

Almed, N., and Rice, G. E. (2005). Strategies for revealing lower abundance proteins in two-dimensional protein maps. *J. Chromatogr B Analyt Technol. Biomed. Life Sci* 815, 39–50.

Andrews, P., Freyberger, A., Hartmann, E., Eiben, R., Loof, L., Schmid, U., Temerowski, M., and Becka, M. (2001). Feasibility and potential gains of enhancing the subacute rat study protocol (OECD test guideline no. 407) by

additional parameters selected to determine endocrine modulation: A pre-validation study to determine endocrine-mediated effects of the antiandrogenic drug flutamide. *Arch. Toxicol.* 75, 65–73.

Barella, L., Rota, C., Stocklin, E., and Rimbach, G. (2004). Alpha-tocopherol affects androgen metabolism in male rat. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1031, 334–336.

Cavazzini, D., Galdieri, M., and Ottomello, S. (1996). Retinoic acid synthesis in the somatic cells of rat seminiferous tubules. *Biochim. Biophys. Acta* 1313, 139–145.

Cayatte, C., Pons, C., Guignon, J. M., Pizzol, J., Elies, L., Kennel, P., Ronquie, D., Bars, R., Rossi, B., and Samson, M. (2006). Protein profiling of rat ventral prostate following chronic finasteride administration: Identification and localization of a novel putative androgen-regulated protein. *Mol. Cell. Proteomics* 5, 2031–2043.

Chen, J. L., Guo, S. H., and Gao, F. H. (2001). Nuclear matrix in developing rat spermatogenic cells. *Mol. Reprod. Dev.* 59, 314–321.

Com, E., Evrard, B., Roepstorff, P., Aubry, F., and Pineau, C. (2003). New insights into the rat spermatogonial proteome: Identification of 156 additional proteins. *Mol. Cell. Proteomics* 2, 248–261.

Cossio, G., Sanchez, J. C., Goluz, O., Wettstein, R., and Hochstrasser, D. F. (1995). Spermatocytes and round spermatids of rat testis: Protein patterns. *Electrophoresis* 16, 1225–1230.

Cossio, G., Sanchez, J. C., Wettstein, R., and Hochstrasser, D. F. (1997). Spermatocytes and round spermatids of rat testis: The difference between in vivo and in vitro protein patterns. *Electrophoresis* 18, 548–552.

Council, N. R. (1996). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. National Academies Press, Washington, DC.

- Duester, G. (1996). Involvement of alcohol dehydrogenase, short-chain dehydrogenase/reductase, aldehyde dehydrogenase, and cytochrome P450 in the control of retinoid signaling by activation of retinoic acid synthesis. *Biochemistry* 35, 12221-12227.
- Duester, G. (2000). Families of retinoid dehydrogenases regulating vitamin A function: Production of visual pigment and retinoic acid. *Eur. J. Biochem.* 267, 4315-4324.
- Flickinger, C. J., Rao, J., Bush, L. A., Sherman, N. E., Oko, R. J., Jayes, F. C., and Hert, J. C. (2001). Outer dense fiber proteins are dominant postobstruction autoantigens in adult Lewis rats. *Biol. Reprod.* 64, 1451-1459.
- Fofana, M., Travert, C., Carreau, S., and Le Goff, D. (2000). Evaluation of cholesteryl ester transfer in the seminiferous tubule cells of immature rats in vivo and in vitro. *J. Reprod. Fert.* 118, 79-83.
- Gorg, A., Weiss, W., and Dunn, M. J. (2004). Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. *Proteomics* 4, 3665-3685.
- Kennel, P. F., Pallen, C. T., and Bars, R. G. (2004). Evaluation of the rodent Hershberger assay using three reference endocrine disruptors (androgen and antiandrogens). *Reprod. Toxicol.* 18, 63-73.
- Kubota, K., Ohwako, S., Kurosawa, S., Takeda, K., Qing, W., Sakane, M., Kawakami, T., Ishimura, R., and Tohyama, C. (2003). Effects of vinclozolin administration on sperm production and testosterone biosynthetic pathway in adult male rat. *J. Reprod. Dev.* 49, 403-412.
- Kunimatsu, T., Yamada, T., Miyata, K., Yabushita, S., Seki, T., Okuno, Y., and Matsuo, M. (2004). Evaluation for reliability and feasibility of the draft protocol for the enhanced rat 28-day subacute study (OECD Guideline 407) using androgen antagonist flutamide. *Toxicology* 200, 77-89.
- Lefevre, A., Rogier, E., Astrando, C., Daquenne, C., and Finaz, C. (1994). Regulation by retinoids of luteinizing hormone/chorionic gonadotropin receptor, cholesterol side-chain cleavage cytochrome P-450, 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta (5-4) isomerase and 17 alpha-hydroxylase/C17-20 lyase cytochrome P-450 messenger ribonucleic acid levels in the K9 mouse Leydig cell line. *Mol. Cell. Endocrinol.* 106, 31-39.
- Leighton, J. K. (2005). Application of emerging technologies in toxicology and safety assessment: Regulatory perspectives. *Int. J. Toxicol.* 24, 153-155.
- Livera, G., Rouiller-Fabre, V., Piraault, C., Levacher, C., and Habert, R. (2002). Regulation and perturbation of testicular functions by vitamin A. *Reproduction* 124, 173-180.
- Luo, L., Chen, H., Stocco, D. M., and Zirkin, B. R. (1998). Leydig cell protein synthesis and steroidogenesis in response to acute stimulation by luteinizing hormone in rats. *Biol. Reprod.* 59, 263-270.
- Mascato, C., Nadal, A., Hegardt, F. G., Marrero, P. F., and Haro, D. (2000). Contribution of steroidogenic factor 1 to the regulation of cholesterol synthesis. *Biochem. J.* 350(Pt 3), 785-790.
- McKinnell, C., Brackenbury, E. T., Qureshi, S. J., Hargreave, T. B., and Sharpe, R. M. (1995). Comparative analysis of proteins secreted in vitro by isolated seminiferous tubules from man and the rat. *Int. J. Androl.* 18, 103-111.
- Merrick, B. A., and Bruno, M. E. (2004). Genomic and proteomic profiling for biomarkers and signature profiles of toxicity. *Curr. Opin. Mol. Ther.* 6, 600-607.
- Ohwako, S., Kubota, K., Kurosawa, S., Takeda, K., Qing, W., Ishimura, R., and Tohyama, C. (2003). Alterations of gene expression in adult male rat testes and pituitary shortly after subacute administration of the antiandrogen flutamide. *J. Reprod. Dev.* 49, 275-290.
- Okahara, A., Nomura, A., Tanioka, H., Sakamoto, H., Yamashita, K., and Ikuse, T. (2000). Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats 5. Effects of repeated doses of flutamide for 2 and 4 weeks. *J. Toxicol. Sci.* 25, 63-70.
- Olson, L. M., Zhou, X., and Schreiber, J. R. (1994). Immunolocalization of apolipoprotein E in the testis and epididymis of the rat. *Biol. Reprod.* 50, 535-542.
- Peets, E. A., Henson, M. F., and Neri, R. (1974). On the mechanism of the anti-androgenic action of flutamide (alpha-alpha-alpha-trifluoro-2-methyl-4'-nitro-m-propionoluidide) in the rat. *Endocrinology* 94, 532-540.
- Pikaneen-Arsiola, T., Tillman, J. E., Gu, G., Yuan, J., Roberts, R. L., Wantroba, M., Coetzee, G. A., Cookson, M. S., and Kasper, S. (2006). Androgen and anti-androgen treatment modulates androgen receptor activity and DJ-1 stability. *Prostate* 66, 1177-1193.
- Rabilloud, T. (2002). Two-dimensional gel electrophoresis in proteomics: Old, old fashioned, but it still climbs up the mountains. *Proteomics* 2, 3-10.
- Ramagli, L. S., and Rodriguez, L. V. (1985). Quantitation of microgram amounts of protein in two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis sample buffer. *Electrophoresis* 6, 559-563.
- Rockett, J. C. (2001). Genomic and proteomic techniques applied to reproductive biology. *Genome Biol.* 2, Reports 4020.
- Simard, J., Lathy, I., Guay, J., Belanger, A., and Labrie, F. (1986). Characteristics of interaction of the antiandrogen flutamide with the androgen receptor in various target tissues. *Mol. Cell. Endocrinol.* 44, 261-270.
- Toyoda, K., Shibutani, M., Tamura, T., Konjitani, T., Uneyama, C., and Hirose, M. (2000). Repeated dose (28 days) oral toxicity study of flutamide in rats, based on the draft protocol for the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for screening for endocrine-disrupting chemicals. *Arch. Toxicol.* 74, 127-132.
- van Pelt, A. M., and de Rooij, D. G. (1991). Retinoic acid is able to reinstate spermatogenesis in vitamin A-deficient rats and high replicate doses support the full development of spermatogenic cells. *Endocrinology* 128, 697-704.
- Viguier-Martinez, M. C., Hochereau de Reviens, M. T., Barenton, B., and Perreau, C. (1983). Endocrinological and histological changes induced by flutamide treatment on the hypothalamo-hypophyseal testicular axis of the adult male rat and their incidences on fertility. *Acta. Endocrinol. (Copenhagen)* 104, 246-252.
- Weinreb, B. A., and Merrick, B. A. (2004). Toxicoproteomics: Proteomics applied to toxicology and pathology. *Toxicol. Pathol.* 32, 619-642.
- Whitaker, H. C., Hamrahan, S., Totty, N., Gambke, S. C., Waxman, J., Cato, A. C., Hurst, H. C., and Bevan, C. L. (2004). Androgen receptor is targeted to distinct subcellular compartments in response to different therapeutic antiandrogens. *Clin. Cancer Res.* 10, 7392-7401.
- Witzmann, F. A., Bobb, A., Briggs, G. B., Coppage, H. N., Hess, R. A., Li, J., Pedrick, N. M., Ritchie, G. D., Ji, J. R., and Still, K. R. (2003). Analysis of rat testicular protein expression following 91-day exposure to JP-8 jet fuel vapor. *Proteomics* 3, 1016-1027.
- Yamamoto, T., Fukushima, T., Kikkawa, R., Yamada, H., and Hoshi, I. (2005). Protein expression analysis of rat testes induced testicular toxicity with several reproductive toxicants. *J. Toxicol. Sci.* 30, 111-126.
- Zhang, Y., Champagne, N., Beitel, L. K., Goodyer, C. G., Triiro, M., and LeBlanc, A. (2004). Estrogen and androgen protection of human neurons against intracellular amyloid beta1-42 toxicity through heat shock protein 70. *J. Neurosci.* 24, 5315-5321.

1.2 Résultats protéomiques

La publication 1 présente une partie des résultats de l'analyse protéomique des testicules de rats traités pendant 28 jours à la forte dose de FM. Nous avons également réalisé une analyse du profil protéique testiculaire de l'ensemble des animaux de cette étude, aux 2 autres niveaux de dose de FM. La figure 21 représente le profil protéique bidimensionnel représentatif d'un testicule de rat contrôle et de rats traités à 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour pendant 28 jours. Un total de 36 gels bidimensionnels (un gel par animal) a été généré et analysé dans cette étude.

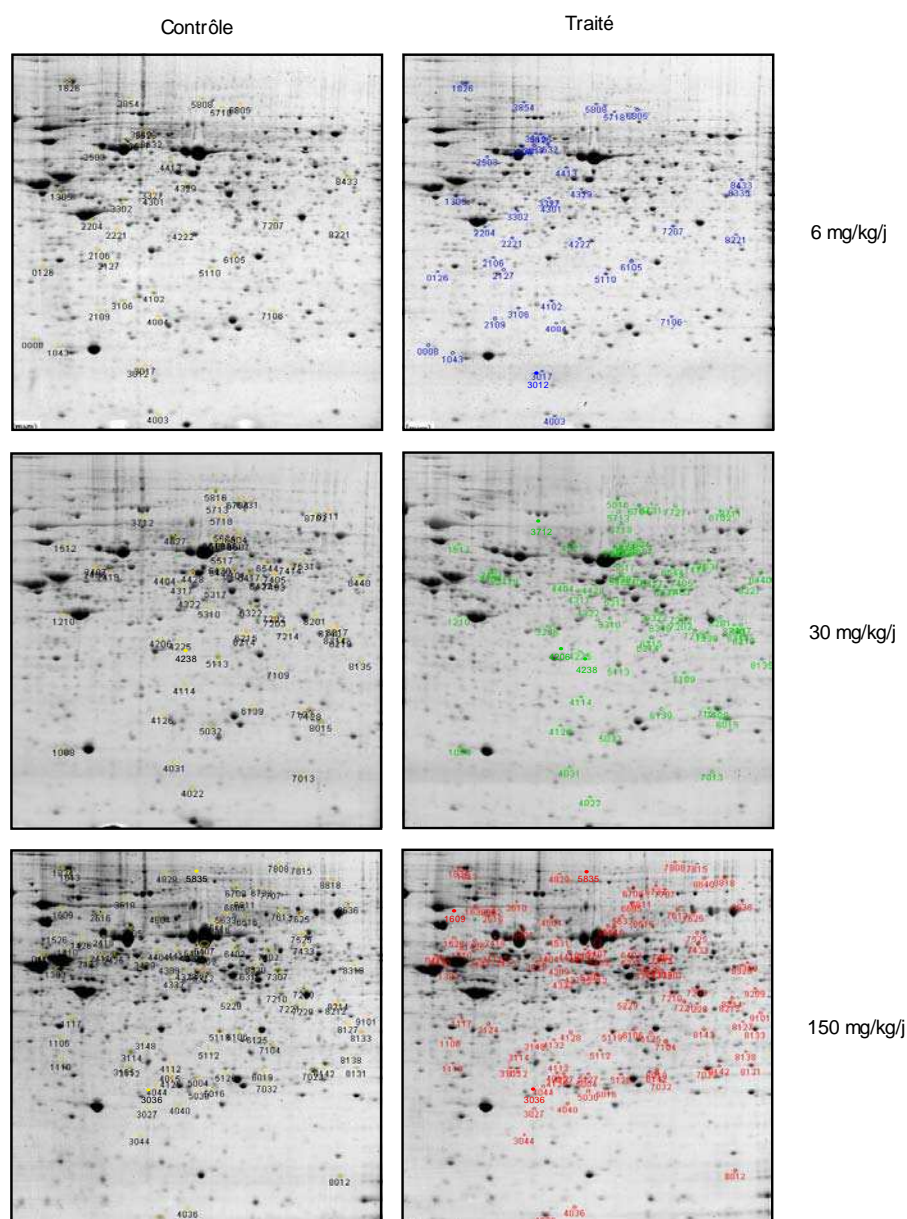


Figure 21 : Profils protéiques bidimensionnels représentatifs de testicules de rats contrôles et traités à 6, 30, 150 mg/kg de FM par jour pendant 28 jours.

Les spots statistiquement modulés (Mann Whitney, $p \leq 0.05$) à chaque niveau de dose, sont localisés sur les gels par leurs numéros SSP.

Cette analyse par gels bidimensionnels effectuée sur une gamme de pH 5-8, nous a permis de mettre en évidence environ 1500 spots différents. Nous avons observé la modulation statistiquement significative (Mann Whitney, $p \leq 0.05$) de nombreux spots, avec 39, 71 et 114 protéines modulées respectivement par 6, 30 et 150 mg/kg/j de FM. Ces protéines sont localisées sur les différents gels de la figure 21 et sont listées en annexe (Table a, p 1).

Nous avons constaté que le nombre de protéines modulées par le FM augmente en fonction de la dose administrée et que ces protéines sont majoritairement sur-accumulées suite à un traitement (Figure 22). Ainsi 69.2 %, 90.1 % et 81.6 % des protéines modulées sont sur-accumulées respectivement aux doses de 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour pendant 28 jours.

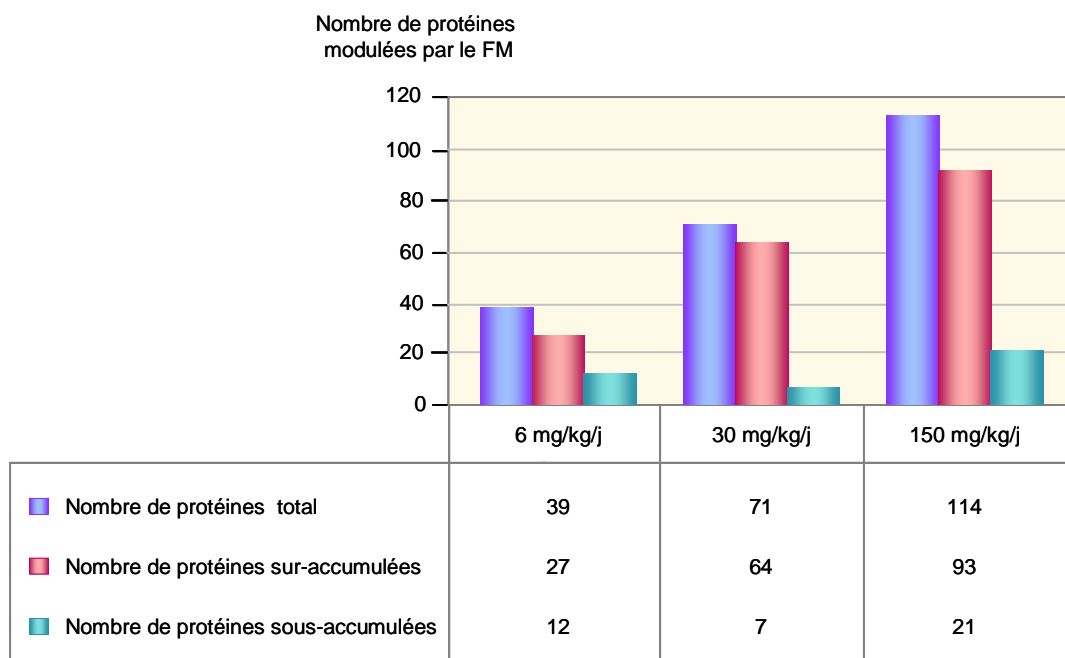


Figure 22 : Représentation du nombre total de protéines modulées par 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement, ainsi que du nombre de protéines sur- et sous- accumulées à chaque niveau de dose.
(Mann Whitney, $p \leq 0.05$)

Certaines protéines sont retrouvées modulées par plusieurs niveaux de doses (Figure 23). Une protéine est affectée à la fois aux doses de 6 et de 30 mg/kg/j, 4 protéines sont modulées aux doses de 6 et 150 mg/kg/j, 17 protéines sont modulées aux doses de 30 et 150 mg/kg/j et seules 3 protéines apparaissent modulées aux 3 niveaux de dose de FM après 28 jours de traitement. Ainsi, 31, 50 et 90 protéines semblent être spécifiquement modulées respectivement aux doses de 6, 30 et 150 mg/kg/j de FM.

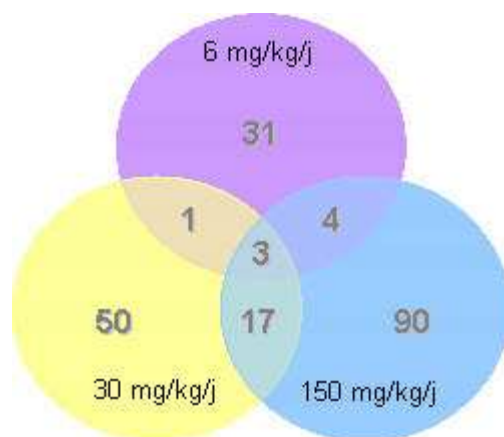


Figure 23 : Diagramme de Venn représentant le nombre de protéines spécifiquement modulées par 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement, ainsi que le nombre de protéines modulées par plusieurs niveaux de doses.
(Mann Whitney, $p \leq 0.05$)

Nous avons analysé le profil d'accumulation de ces protéines statistiquement modulées en fonction de la dose de FM administrée. Pour 44 % des protéines statistiquement modulées par au moins 2 doses de FM, nous observons une augmentation dose-dépendante de leur niveau d'accumulation aux 3 niveaux de dose de FM. De plus, 48 % des protéines statistiquement modulées par au moins 2 doses de FM révèlent également une augmentation de leur niveau d'accumulation entre la faible et la forte dose de FM, mais possèdent un profil d'accumulation dynamique décrivant une augmentation puis une diminution, ou inversement, entre la dose faible et intermédiaire, et entre la dose intermédiaire et forte de FM. Par ailleurs, seule une protéine statistiquement modulée par au moins 2 doses de FM montre une diminution dose-dépendante de son niveau d'accumulation aux 3 niveaux de dose de FM. Il est également intéressant de souligner que 44 % des protéines statistiquement modulées par au moins 2 doses de FM, le sont à partir de la dose de 30 mg/kg/j de FM. Pour ces protéines, la dose de 6 mg/kg/j de FM semble correspondre à une dose sans effet.

Parmi l'ensemble des protéines affectées de façon statistiquement significative, 19, 39 et 47 protéines ont pu être identifiées par spectrométrie de masse, respectivement aux doses de 6, 30 et 150 mg/kg/j. La [table II](#) liste l'ensemble de ces protéines identifiées.

Dose: 6 mg/kg/j

SSP	Nom Protéine	Nom Gène	N° d'accension
8	Proteasome subunit beta type 6 [precursor]	Psm6	P28073
1305	Protein disulfide-isomerase A6 [precursor]	Pdia6	Q63081
3106	Prohibitin	Phb	P67779
3302	Creatine kinase B-type	Ckb	P07335
3327	WD repeat protein 12	Wdr12	P61480
3506	Stress-70 protein, mitochondrial [precursor]	Hspa9	P48721
3854	Predicted: similar to Transcription intermediary factor 1-beta	Trim28	62639032
4003	Low molecular weight phosphotyrosine protein phosphatase	Acp1	P41498
4004	Isopentenyl-diphosphate delta-isomerase 1	Idi1	O35760
4102	Peroxiredoxin 4	Prdx4	37590233
4222	Stomatin (Epb7.2)-like 2	Stom2	71051169
4301	Eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 6	Eif3s6	51980596
4329	Dihydroipoamide S-succinyltransferase (E2 component of 2-oxo-glutarate complex)	Dlst	55742725
4413	Myo-inositol 1-phosphate synthase A1	LOC290651	62078495
5110	Similar to T-Brain-1	LOC311078	66911459
6105	Aldose reductase	Akr1b1	6978491
7207	Acyl-CoA dehydrogenase, long chain specific, mitochondrial [precursor]	Acadl	38541337
8221	Peptidylprolyl isomerase D (cyclophilin D)	Ppid	49900877
8335	Retinal dehydrogenase 1	Aldh1a1	P51647

Dose: 30 mg/kg/j

SSP	Nom Protéine	Nom Gène	N° d'accension
2406	Chaperonin 60 (-26 AA N-term)	Hspd1	1334284
2407	Chaperonin 60	Hspd1	1778213
2419	Chaperonin 60 (-26 AA N-term)	Hspd1	1334284
4022	Basic transcription factor 3-like 4 Mouse	Btf3l4	29789195
4114	Nit1 protein	Nit1	56268926
4126	Isopentenyl-diphosphate delta-isomerase 1	Idi1	O35760
4317	Aldehyde dehydrogenase family 9, subfamily A1	Aldh9a1	75905479
4322	BCL2-associated athanogene 5	Bag5	38176435
4404	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, cytoplasmic	Hmgcs1	P17425
4627	Gonadotropin-regulated long chain acyl-CoA synthetase	Acsbg1	19705503
5032	Peroxiredoxin 3	Prdx3	11968132
5113	Malate dehydrogenase 1, NAD (soluble)	Mdh1	15100179
5310	Similar to RIKEN cDNA 1810007P19	RGD1306596	67678300
5317	Enolase 1, alpha	Eno1	6978809
5420	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	G6pdx	204197
5422	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	G6pdx	204197
5517	Sec1 family domain-containing protein 1	Scfd1	Q62991
5613	Propionyl-CoA carboxylase alpha chain [precursor] (fragment)	Pcca	92654
5626	Guanine monophosphate synthetase	Gmps	66910916
5636	TNF receptor-associated protein 1	Trap1	55741837
5816	Predicted: similar to Vinculin (Metavinculin)	Vcl	109501157
6215	Tw inilin-1	Ptk9	81883342
6417	Carboxylesterase 3 [precursor]	Ces3	P16303
6427	Predicted: similar to aldehyde dehydrogenase family 7 member A1	Aldh7a1	62664437
6544	NADP-dependent malic enzyme	Me1	P13697
6604	ATP-binding cassette, sub-family F (GCN20), member 3	Abcf3	51859211
6704	Similar to oxoglutarate dehydrogenase	LOC360975	62945278
7128	Phosphoglycerate mutase 1	Pgam1	P25113
7203	Acyl-CoA dehydrogenase, long chain specific, mitochondrial [precursor]	Acadl	38541337
7214	Acyl-CoA dehydrogenase, short chain specific, mitochondrial [precursor]	Acads	P15651
7239	Acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 2	Acat2	55741502
7403	Predicted: similar to aldehyde dehydrogenase family 7 member A1	Aldh7a1	62664437
7531	Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase [precursor]	Etfdh	34419911
8015	Acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 2	Acat2	55741502
8135	Aldo-keto reductase family 1, member B8	Akr1b8	27465603
8219	Peptidylprolyl isomerase D (cyclophilin D)	Ppid	49900877
8327	Retinal dehydrogenase 1	Aldh1a1	P51647
8440	Similar to chaperonin containing TCP-1 zeta-2 subunit	Loc363658	62079183
8702	Eukaryotic translation elongation factor 2	Eef2	8393296

Dose: 150 mg/kg/j

SSP	Nom Protéine	Nom Gène	N° d'accension
1106	Apolipoprotein E [precursor]	ApoE	P02650
1303	Alpha-1-antiproteinase [precursor]	Serpina1	P17475
2411	Chaperonin 60	Hspd1	1778213
2418	Heat shock-related 70 kDa protein 2	Hspa2	P14659
2425	Chaperonin 60	Hspd1	1778213
2616	Inner membrane protein, mitochondrial	Immt	77917546
3105	Predicted: similar to 6-phosphogluconolactonase	Pgls	34877556
3112	Prohibitin	Phb	P67779
3114	Triosephosphate isomerase	Tpi1	P48500
3505	Stress-70 protein, mitochondrial [precursor]	Hspa9	P48721
4006	Fatty acid-binding protein, heart	Fapb3	P07483
4125	Isopentenyl-diphosphate delta-isomerase 1	Idi1	O35760
4309	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, cytoplasmic	Hmgcs1	P17425
4323	Aldehyde dehydrogenase family 9, subfamily A1	Aldh9a1	75905479
4404	Myo-inositol 1-phosphate synthase A1	LOC290651	62078495
4604	Gonadotropin-regulated long chain acyl-CoA synthetase	Acsbg1	19705503
5016	Peroxiredoxin 3	Prdx3	11968132
5119	Malate dehydrogenase 1, NAD (soluble)	Mdh1	15100179
5126	Steroidogenic acute regulatory protein, mitochondrial [precursor]	Star	P97826
5229	Ubiquitin-like domain containing CTD phosphatase 1	Ublcp1	62078971
5312	Aldehyde dehydrogenase family 9, subfamily A1	Aldh9a1	75905479
5511	Propionyl-CoA carboxylase alpha chain precursor (fragment)	Pcca	92654
5516	TNF receptor-associated protein 1	Trap1	55741837
6106	Aldose reductase	Akr1b1	P07943
6142	Glutathione S-transferase Mu 2	Gstm2	P08010
6315	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor]	Aldh2	P11884
6516	Lamin A	Lmna	P48679
6605	Loss of heterozygosity 11 chromosomal region 2 gene A homolog	Loh11cr2a	38454250
6708	Similar to oxoglutarate dehydrogenase	LOC360975	62945278
7023	Phosphoglycerate mutase 1	Pgam1	P25113
7104	Enoyl coenzyme A hydratase 1, peroxisomal	Ech1	12018256
7210	Acyl-CoA dehydrogenase, long chain specific, mitochondrial [precursor]	Acadl	38541337
7221	Acyl-CoA dehydrogenase, short chain specific, mitochondrial [precursor]	Acads	P15651
7228	Acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 2	Acat2	55741502
7230	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	ldh1	P41562
7307	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor]	Aldh2	P11884
7338	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor]	Aldh2	P11884
7402	NADP-dependent malic enzyme	Me1	P13697
7433	Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase [precursor]	Etf dh	34419911
7625	Serotransferrin [precursor]	Tf	P12346
8012	Rsb-66 protein	Rsb66	66910535
8131	Carbonic anhydrase 2	Ca2	P27139
8133	Aldo-keto reductase family 1, member B8	Akr1b8	27465603
8142	Carbonic anhydrase 2	Ca2	9506445
8319	pre-B-cell colony-enhancing factor 1	Nampt	29293813
8326	Retinal dehydrogenase 1	Aldh1a1	P51647
8636	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 1	Ddx1	61097941

Table II : Protéines statistiquement modulées à 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement, et identifiées par spectrométrie de masse.

19, 39 et 47 protéines ont pu être identifiées respectivement aux 3 niveaux de doses. Les numéros des spots (SSP) se réfèrent aux spots localisés sur les profils bidimensionnels (Figure 21).

Nous avons cherché à identifier les voies métaboliques et fonctions biologiques affectées par les différents niveaux de dose de FM. Par une analyse fonctionnelle, nous avons pu classer les protéines identifiées et modulées par le FM en 8 grandes fonctions biologiques (Figure 24).

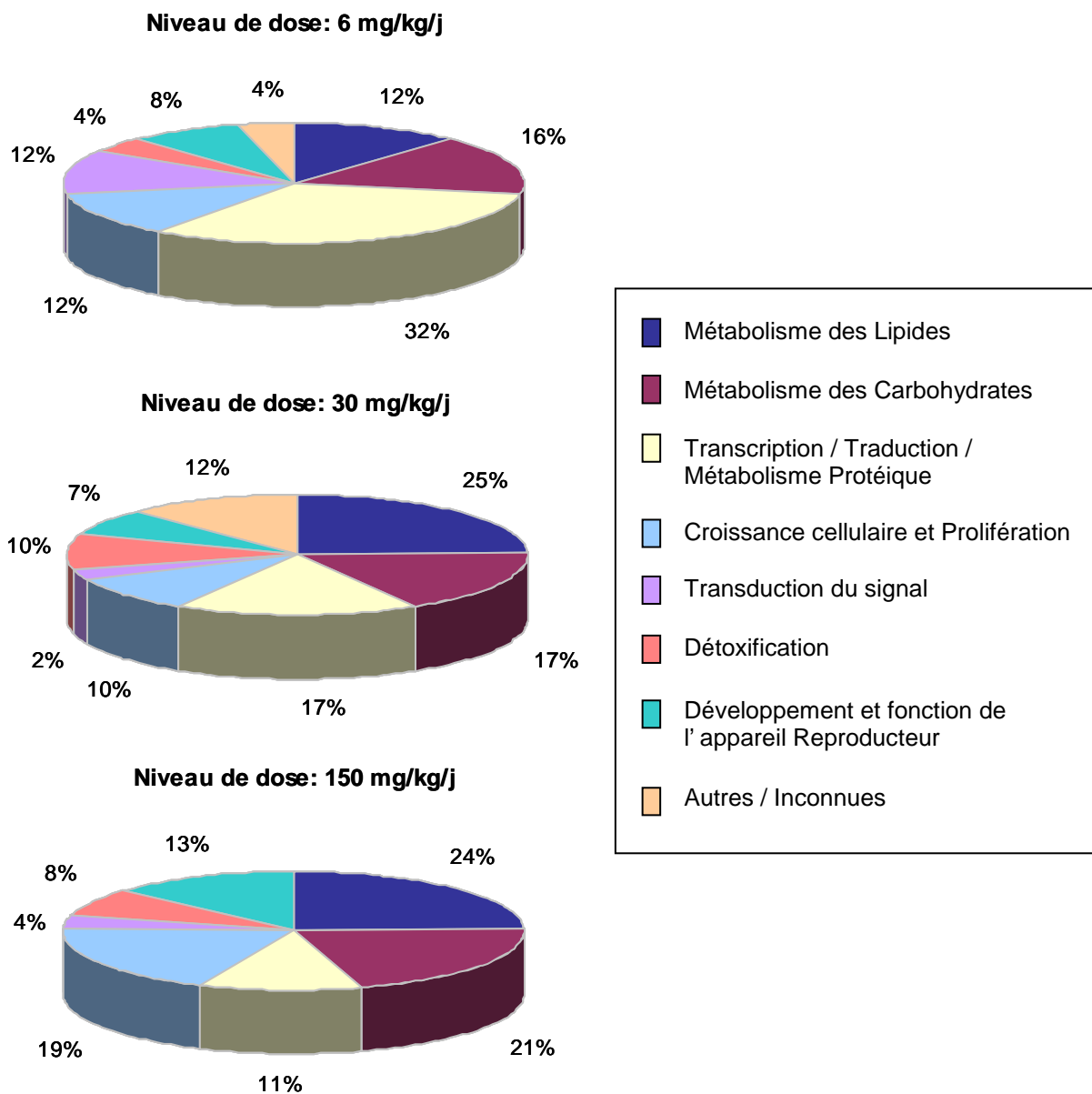


Figure 24: Voies métaboliques affectées par 6, 30, 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement.

La voie de biosynthèse des lipides apparaît être modulée dès la faible dose de FM. Un nombre croissant de protéines impliquées dans cette voie métabolique est affecté de façon dose-dépendante : 3 protéines (Idi1, Alhd1a1, Acadl), 10 protéines (Idi1, Alhd1a1, Acadl, Acals, Acat2, Hmgcs1, Acsbg1, Aldh9a1, Pcca, Ces3) et 13 protéines (Idi1, Alhd1a1, Acadl, Acals, Acat2, Hmgcs1, Acsbg1, Aldh9a1, Pcca, ApoE, Star, Fapb3, Ech1) sont sur-accumulées après 28 jours de traitement respectivement aux doses de 6, 30 et 150 mg/kg/j de FM. Il apparaît que les 3 protéines communément modulées aux 3 niveaux de dose appartiennent à cette voie métabolique. L'acétyl-CoA déshydrogénase mitochondriale longue chaîne (Acadl) est impliquée dans le métabolisme des acides gras et l'isopentenyl-diphosphate delta-isomérase (Id1) est une enzyme participant à la biosynthèse des stéroïdes. Ces protéines sont des enzymes clés impliquées dans la synthèse de la

testostérone. Le rétinol déhydrogénase 1 (Aldh1a1) permet la synthèse de l'acide rétinol, molécule connue pour être impliquée dans la régulation des fonctions testiculaires. Les fonctions de l'ensemble de ces protéines impliquées dans la biosynthèse des stéroïdes ont été décrites en détail dans la publication 1.

Nous constatons également que 57 % de l'ensemble de ces protéines impliquées dans la voie de biosynthèse des lipides et sur-accumulées suite au traitement FM, décrivent une augmentation dose-dépendante de leur niveau d'accumulation.

La voie de biosynthèse des carbohydrates est également modulée par le FM de façon dose-dépendante: 2 protéines (Akr1b1, Dlst), 6 protéines (Mdh1, Me1, Pgma1, Loc360975, Aldh1a1, Eno1, G6pdx) et 10 protéines (Mdh1, Me1, Pgma1, Loc360975, Akr1b1, Loc290651, Aldh2, Idh1, Pgls, Tpi1) sont modulées, respectivement à 6, 30 et 150 mg/kg/j de FM, après 28 jours de traitement. Globalement, le niveau d'accumulation de ces protéines augmente de façon dose-dépendante. Ces protéines permettent la production d'énergie et de précurseurs nécessaires à la synthèse des stéroïdes et participent donc probablement de façon indirecte à la biosynthèse de la testostérone.

Le profil d'accumulation et le nombre de protéines modulées par le FM et participant aux voies de biosynthèse des lipides et des carbohydrates, semblent corroborer le profil de testostérone plasmatique mesuré en fonction du niveau de dose du FM (voir Publication 1).

Concernant les processus de croissance et de prolifération cellulaires, nous constatons que, contrairement à ce qui a été observé à la forte dose, seule une faible proportion de protéines modulées et identifiées aux doses faibles et intermédiaires sont impliquées dans ces processus. A la faible dose de FM, une augmentation du niveau d'accumulation des protéines Phb et Hspa9 est observée. Les protéines Nit1, Bag5 et Etfdh apparaissent sur-accumulées à la dose intermédiaire par rapport aux contrôles. L'ensemble de ces protéines participe à la régulation et au contrôle de la prolifération cellulaire. A la forte dose, 19 % des protéines modulées participent à ce processus (Phb, Hspa2, Fapb3, Lmna, Loh11cr2a, Trap1, Etfdh, Nampt, Immt) (voir Publication 1). L'augmentation du nombre de ces protéines en fonction de la dose de FM administrée peut être corrélée avec l'augmentation de l'incidence et de la sévérité de l'hyperplasie des cellules de Leydig.

Certaines protéines, participant au processus de détoxification et de métabolisme des xénobiotiques, sont trouvées modulées aux doses intermédiaire et forte. Le FM induit la sur-accumulation des protéines Akr1b8, Akr1b1, Gstm2, Prdx3, Ces3. A la faible dose, nous n'avons pas identifié de protéines participant à ces fonctions biologiques, ce qui suppose que

les mécanismes de détoxification endogène sont suffisants pour permettre l'élimination du FM à cette dose. Il semblerait qu'à partir d'une certaine concentration de FM administrée, les cellules mettent en place des mécanismes de défense supplémentaire afin d'éliminer le FM présent à de plus fortes concentrations au niveau testiculaire.

Aux doses faible et intermédiaire de FM, nous avons observé une modulation du niveau d'accumulation de nombreuses protéines, respectivement 32 % et 17 %, impliquées dans les processus de transcription et de traduction. Ces protéines incluent des facteurs de transcription (Loc311078, Trim28, Btl3l4), des protéines régulant la traduction (Eif3s6, Eef2) ainsi que des protéines chaperonnes qui participent au repliement des protéines néosynthétisées (Pdia6, Pdid, Bag5, Hspa9, Hspd1, Trap1). A forte dose de FM, nous avons constaté la modulation du niveau d'accumulation de protéines principalement impliquées dans le processus de traduction : facteurs de traduction (Ublcp1, Ddx1) et protéines chaperonnes (Hspa9, Hspd1, Hspa2, Trap1) (voir publication 1). Il est intéressant de noter que peu de protéines, participant aux processus de transcription et traduction, sont retrouvées modulées communément à plusieurs niveaux de doses de FM. Il semblerait donc que selon la dose de FM administrée, différentes protéines, impliquées dans différentes étapes de ces processus, soient modulées.

Globalement, nous avons observé une augmentation dose-dépendante du niveau d'accumulation et du nombre de protéines induites par le FM et impliquées dans la voie de biosynthèse des lipides et des carbohydrates. Les protéines communément modulées par plusieurs niveaux de doses de FM participent majoritairement à ces voies métaboliques. Le FM semble également moduler les processus de prolifération cellulaire, de détoxification ou encore de transcription et traduction de façon spécifique selon la dose administrée.

1.3 Résultats transcriptomiques

Afin de satisfaire des contraintes de coût liées aux analyses sur biopuces, nous avons choisi d'analyser des « pools » d'échantillons pour réduire le nombre de puce nécessaire à l'ensemble de nos analyses. Nous avons, dans un premier temps, effectué des analyses par PCR quantitative en temps réel sur une vingtaine de gènes choisis arbitrairement et potentiellement sensibles aux antiandrogènes, dans le but de valider l'utilisation de « pools » d'échantillons d'ARNm dans nos analyses transcriptomiques. Pour cela, nous avons comparé par PCR quantitative, le niveau d'accumulation de ces transcrits dans les échantillons d'ARNm individuels contrôles et traités à la forte dose de FM, utilisés pour former les « pools » d'échantillons.

Nous avons montré que pour 95 % des gènes testés, l'analyse sur « pool » d'échantillons permet de mettre en évidence des différences de niveaux d'accumulation observées par une analyse d'échantillons individuels, malgré une variabilité biologique importante pour certains gènes (Figure 25). Plusieurs travaux rapportés dans la littérature démontrent la validité des résultats de biopuces obtenus à partir d'échantillons poolés, mais posent le problème de la diminution de sensibilité, de la perte d'information et de la détection de faux positifs, lié à ce type d'approche. Ces travaux soulignent également l'importance du nombre d'échantillons poolés nécessaire pour obtenir des résultats biologiquement significatifs (Kendziorski *et al.* 2003; Kendziorski *et al.* 2005). D'après ces résultats, nous effectuerons nos analyses transcriptomiques à partir de pools de 6 échantillons.

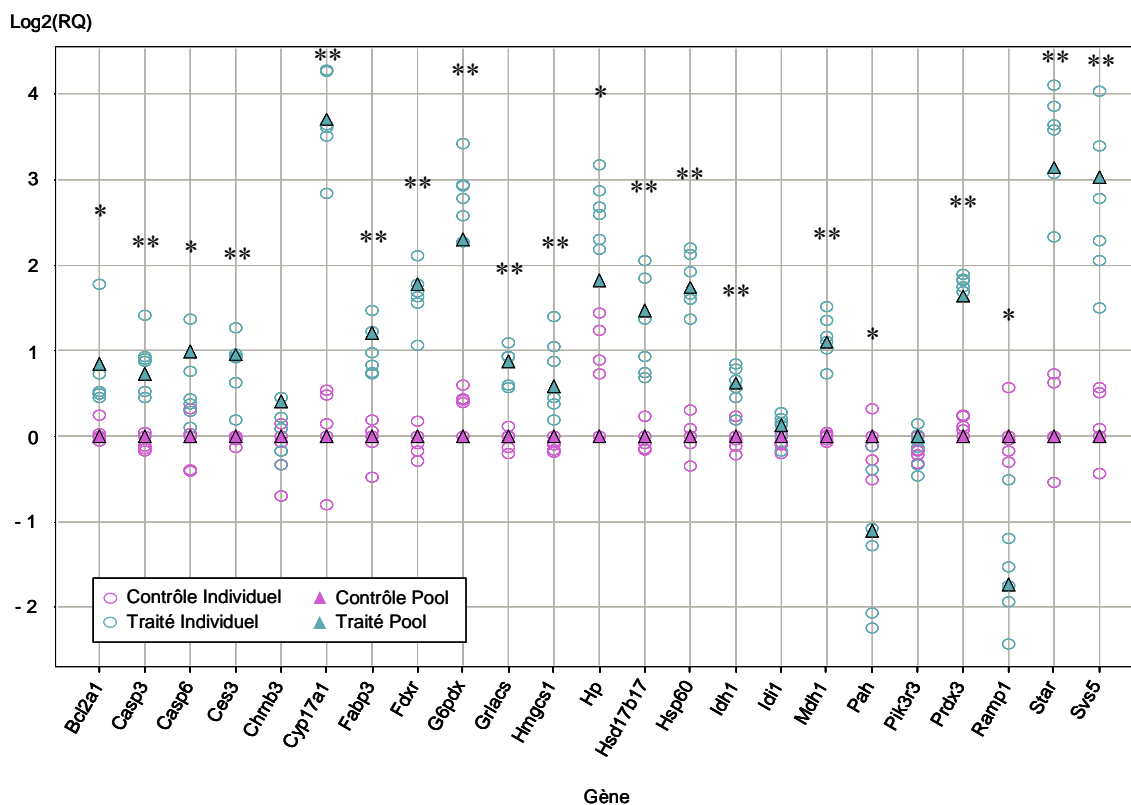


Figure 25 : Analyse par PCR quantitative du profil d'expression de 23 gènes dans les échantillons individuels et poolés.

Le niveau d'expression des 23 gènes est mesuré dans les échantillons contrôle et traités à la forte dose de FM (150 mg/kg/j). Six échantillons par groupe sont analysés dans la condition individuelle (t-Test, *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.001$) et un échantillon par groupe est analysé en duplicat pour la condition poolée. L'axe des ordonnées correspondant à la quantité relative (RQ) d'expression (en Log2) par rapport à l'échantillon contrôle de chaque gène analysé représenté sur l'axe des abscisses.

Les niveaux d'accumulation des transcrits testiculaires des rats traités à chacune des doses de FM (6, 30 et 150 mg/kg/j) ont été comparés à ceux d'animaux contrôles, à l'aide de puces oligonucléotidiques couvrant le génome total du rat. Un total de 6 lames a été nécessaire à cette analyse. La figure 26 représente les diagrammes de dispersion des données d'accumulation des transcrits des testicules de rats traités par rapport à ceux de rats contrôles. Chaque diagramme représente le \log_{10} du ratio de l'expression des gènes chez les traités par rapport aux contrôles en fonction du niveau d'expression des gènes.

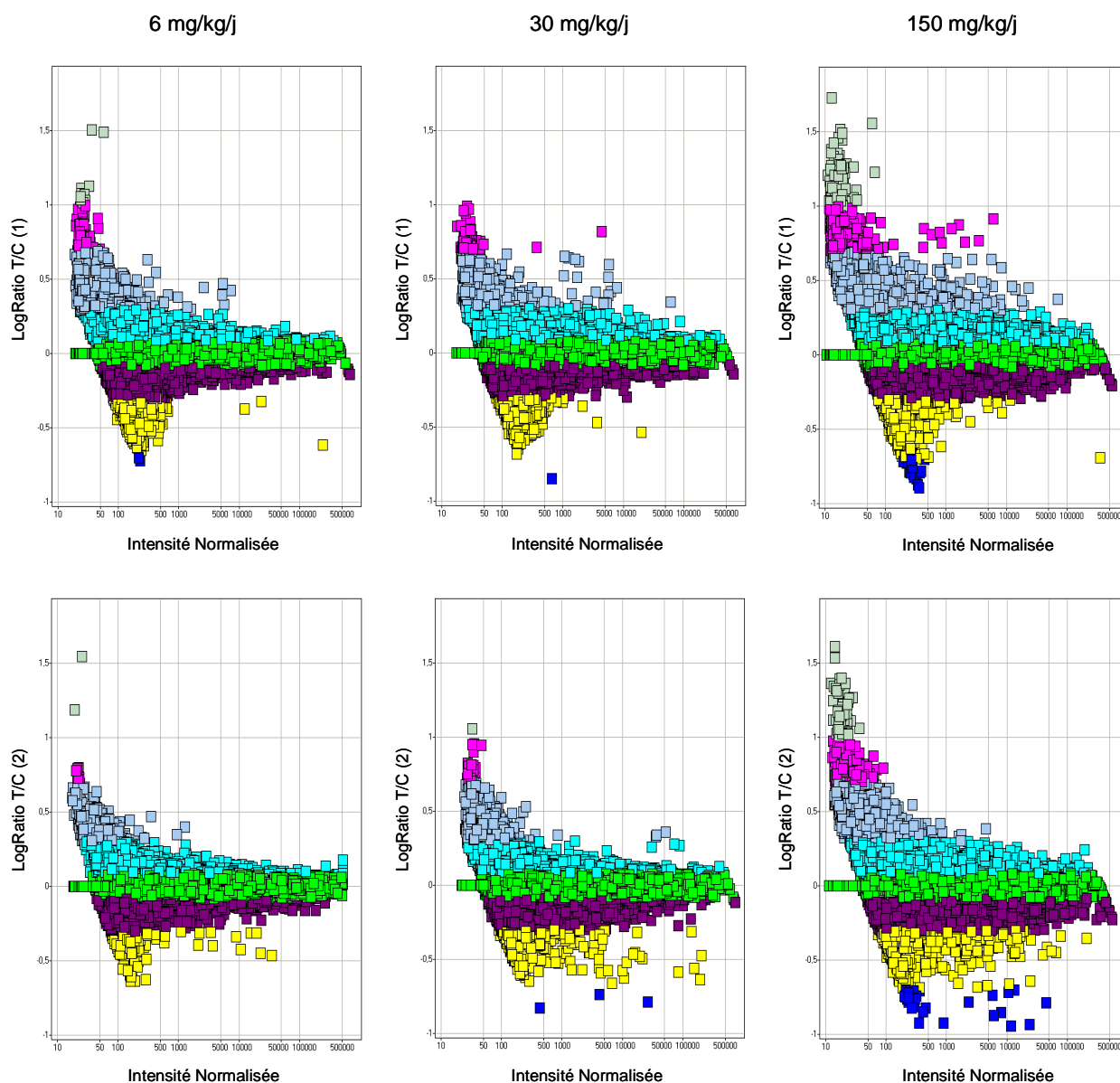
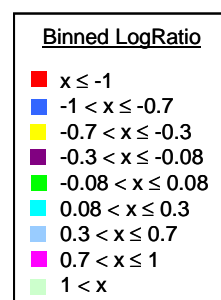


Figure 26: Diagramme de dispersion (scatters-plots) des résultats de puce aux doses de 6, 30 et 150 mg/kg/j de FM.

Chaque scatter plot représente le \log_{10} du ratio de l'expression des gènes testiculaires des animaux traités par rapport aux animaux contrôles en fonction du niveau d'expression des gènes. Chaque expérience est composée de 2 analyses réalisées en «dye swap»: les sondes (ARNc) sont produites par transcription in vitro, avec l'incorporation du CTP-Cy3 dans les échantillons contrôles et du CTP-Cy5 dans les échantillons traités (scatter plot supérieur); l'incorporation du CTP-Cy5 dans les échantillons contrôles et du CTP-Cy3 dans les échantillons traités (scatter plot inférieur).



Afin de valider nos résultats d'expression génique issus de ces analyses sur puces oligonucléotidiques, nous avons comparé le niveau d'accumulation de plusieurs transcrits obtenu par des analyses sur puces oligonucléotidiques et par PCR quantitative (Figure 27). Etant donné que la technique de PCR quantitative présente de nombreux avantages en termes de sensibilité de détection, de précision des mesures, de spécificité de séquence ou encore de reproductibilité et de rapidité (Wong and Medrano 2005), elle est utilisée comme

technique de référence pour la validation des résultats issus d'analyses sur biopuces. Cette étape de validation, utilisant une technique indépendante de quantification des ARNm, est quasiment incontournable et permet d'être confiant dans l'interprétation des résultats issus des analyses sur puces oligonucléotidiques (Chuaqui *et al.* 2002; Wang *et al.* 2006).

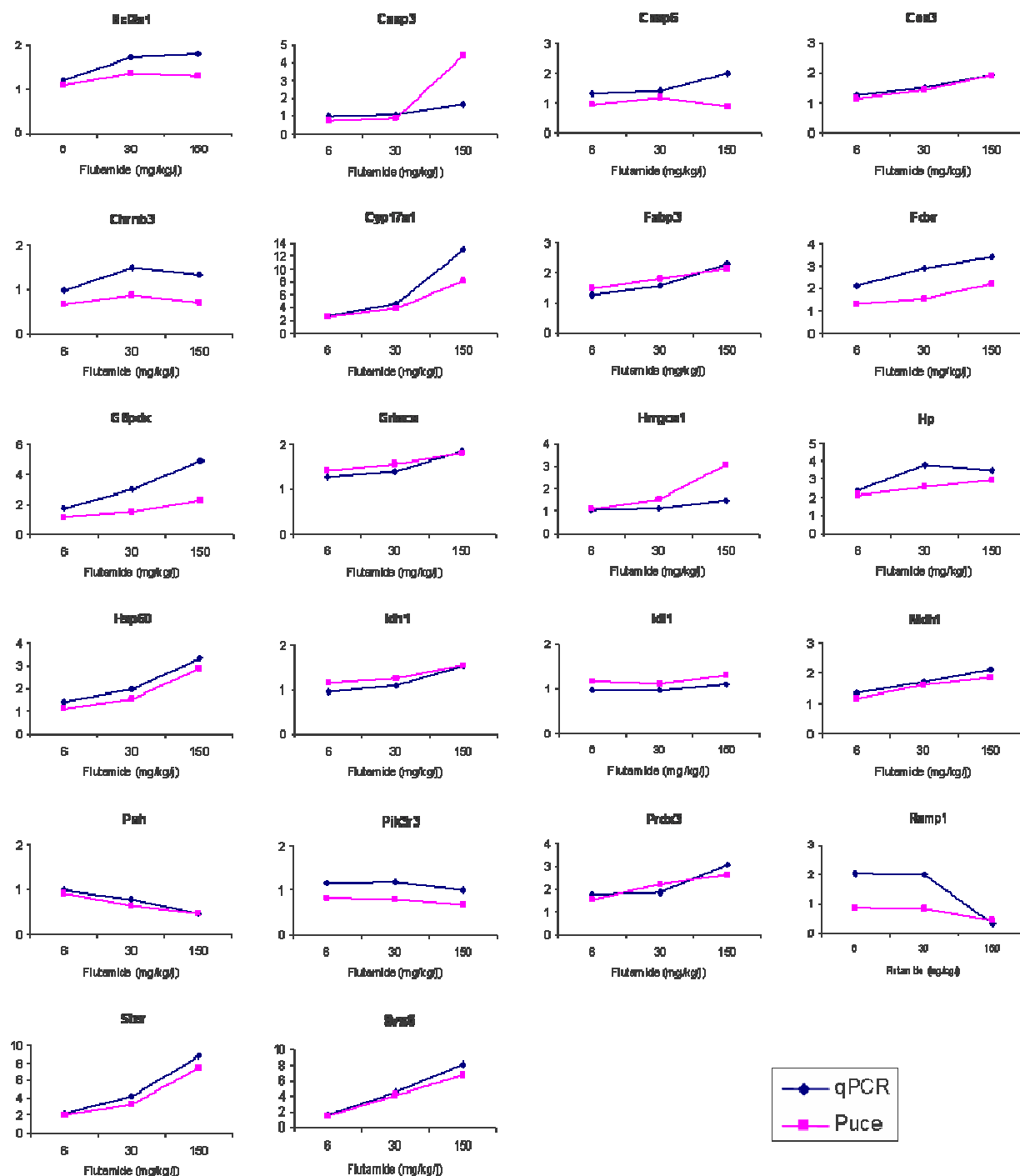


Figure 27 : Comparaison du profil d'expression de 22 gènes issus d'analyses par PCR quantitative et par puces oligonucléotidiques.

Le niveau d'accumulation des 22 gènes est mesuré à partir d'échantillons poolés contrôle et traités aux 3 niveaux de dose de FM. L'axe des abscisses représente le niveau de dose de FM. Pour les données de PCR quantitative, l'axe des ordonnées correspond à la quantité relative (RQ) d'expression des gènes par rapport à l'échantillon contrôle. Pour les données de puces, l'axe des ordonnées correspond au ratio de l'expression des gènes dans la condition traitée par rapport à la condition contrôle.

Nous avons obtenu une très forte corrélation entre les données d'expressions issues de ces deux techniques. En effet, les modulations des niveaux d'accumulation des transcrits, obtenues par PCR quantitative et par biopuce, sont qualitativement similaires pour plus de 85 % des gènes testés. De plus, une très bonne corrélation des niveaux d'accumulation des transcrits issus de ces deux techniques, est observée au niveau quantitatif ($r > 0.71$ pour 73 % des gènes testés), avec des ratios quantitativement identiques pour 25 % des gènes testés. Par ailleurs, concernant les ratios issus de l'analyse sur biopuce, nous constatons qu'ils sont pour une majorité des gènes (60 %) inférieurs à ceux obtenus par PCR quantitative, et nous observons un phénomène de « tassement » de ces ratios. Ce phénomène a déjà été décrit dans la littérature (Dallas *et al.* 2005; Wang *et al.* 2006), et est lié à diverses limitations techniques des biopuces, en particulier aux processus de transformation des données brutes tels que leur normalisation.

Nous avons ainsi démontré que l'effet traitement mesuré à partir d'échantillons poolés est plus important que la variabilité interindividuelle des échantillons biologiques, pour les quelques gènes testés, et que cet effet traitement mesuré par biopuce est également plus important que la variabilité liée à la technique elle-même. Ces analyses comparatives confirment donc la validité de nos résultats obtenus par l'analyse d'échantillons poolés sur puces oligonucléotidiques et nous rendent confiants dans leurs interprétations effectuées par la suite.

Cette étape de validation nous a également permis de fixer des critères arbitraires de sélection des transcrits différenciellement accumulés :

- niveau d'accumulation (ou intensité normalisée) > 500
- ratio d'accumulation (traités / contrôles) > 1.2 ($\text{Log}_{10} \geq 0.08$) et < 0.8 ($\text{Log}_{10} \leq -0.08$),
- transcrits altérés dans les 2 analyses en « dye swap »

Ces critères relativement stringents sont appliqués lors de l'analyse des résultats des biopuces et permettent de créer des listes de transcrits analysées par des logiciels spécialisés.

D'après ces critères de sélection nous avons pu mettre en évidence 207, 399 et 1482 transcrits dont le niveau d'accumulation est modulé, respectivement par 6, 30 et 150 mg/kg/j de FM. L'ensemble des transcrits modulés par le FM est listé en annexe (Table b, p 4). De la même façon que dans l'analyse protéomique, nous observons que le nombre de transcrits modulés augmente en fonction de la dose de FM administrée et que ces transcrits sont majoritairement sur-accumulés suite au traitement au FM (Figure 28). Ainsi 70 %, 70.7 % et 57.4 % des transcrits affectés sont sur-accumulés respectivement par 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour pendant 28 jours.

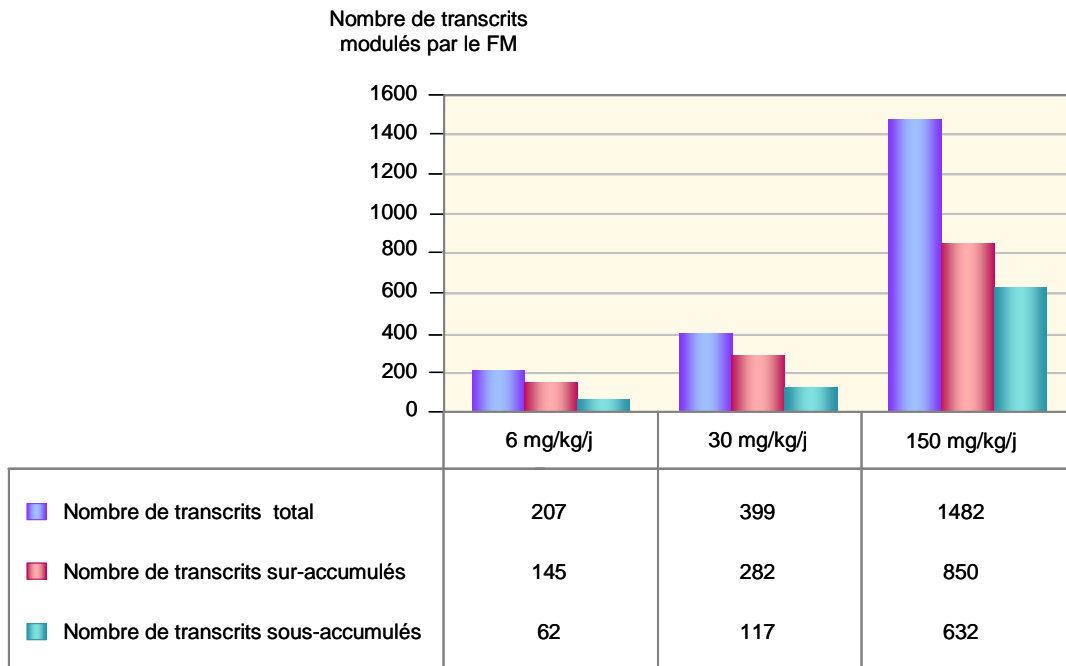


Figure 28 : Représentation du nombre total de transcrits modulés par 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement, ainsi que du nombre de transcrits sur- et sous- accumulés à chaque niveau de dose.

Un total de 1759 transcrits apparaît être affecté par le traitement au FM pendant 28 jours, ce qui représente 4.3 % du nombre total de gènes présents sur la biopuce. Nous constatons que 255 de ces transcrits, soit 14.5 %, sont retrouvés modulés par au moins deux niveaux de doses de FM, avec 32 transcrits modulés à la fois aux doses de 6 et de 30 mg/kg/j, 17 transcrits modulés aux doses de 6 et 150 mg/kg/j, 132 transcrits modulés aux doses de 30 et 150 mg/kg/j, et 74 transcrits modulés aux 3 niveaux de dose de FM après 28 jours de traitement. Ainsi, 84, 161 et 1259 transcrits apparaissent être spécifiquement modulés respectivement aux doses de 6, 30 et 150 mg/kg/j de FM (Figure 29).

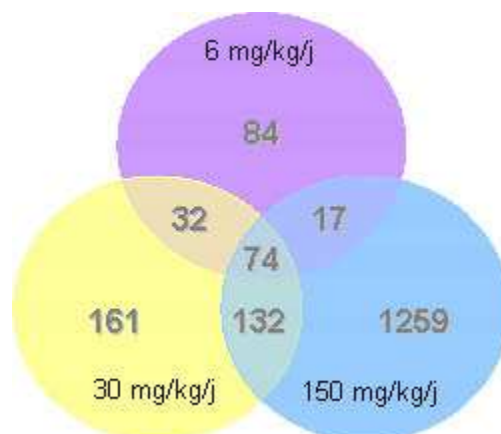


Figure 29 : Diagramme de Venn représentant le nombre de transcrits spécifiquement modulés par 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement, ainsi que le nombre de transcrits modulés par plusieurs niveaux de doses.

Nous avons analysé les profils d'accumulation de ces transcrits significativement modulés en fonction de la dose de FM administrée (Figure 30). Concernant les 74 transcrits modulés aux 3 niveaux de dose de FM, nous observons pour 50 % d'entre eux une augmentation dose-dépendante de leur niveau d'accumulation (A.1). Pour 12 % et 18 % de ces transcrits, cette même augmentation est observée respectivement, uniquement entre les doses intermédiaire et forte (A.2) ou entre les doses faible et intermédiaire (A.3). Ainsi, nous pouvons dire que la majorité (80 %) des transcrits modulés aux 3 niveaux de dose de FM est induite de façon dose-dépendante par un traitement au FM pendant 28 jours. En analysant les profils d'accumulation des transcrits significativement modulés par au moins 2 doses de FM, nous constatons que 37 % des transcrits modulés aux doses de 6 et 30 mg/kg/j révèlent une augmentation dose-dépendante de leur niveau d'accumulation entre ces 2 doses (B.1), alors que 50 % ne semblent pas varier (B.2) ; 71 % des transcrits modulés aux doses de 6 et 150 mg/kg/j montrent une augmentation dose-dépendante de leur niveau d'accumulation entre ces 2 doses (C.1) ; et 68 % des transcrits modulés aux doses de 30 et 150 mg/kg/j montrent une augmentation dose-dépendante de leur niveau d'accumulation entre ces 2 doses (D.1) alors que 27 % ne semblent pas varier entre ces 2 niveaux de doses (D.2).

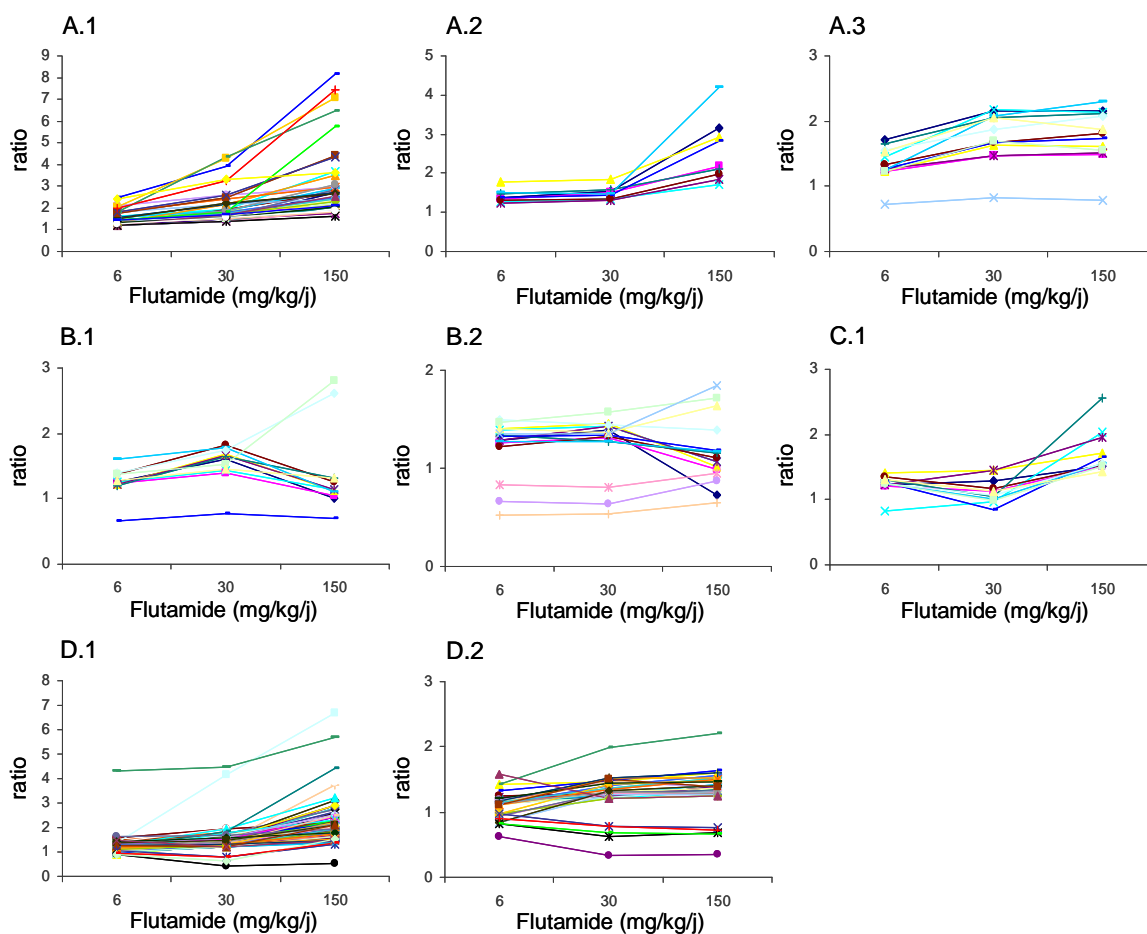


Figure 30 : Profil d'accumulation des transcrits modulés par plusieurs niveaux de doses de FM. Chaque graphique représente le ratio du niveau d'accumulation des transcrits dans la condition traitée par rapport à la condition contrôlée en fonction du niveau de dose de FM. A. Transcrits modulés aux 3 niveaux de dose de FM, B. Transcrits modulés aux doses de 6 et 30 mg/kg/j, C. Transcrits modulés aux doses de 6 et 150 mg/kg/j, et D. Transcrits modulés aux doses de 30 et 150 mg/kg/j.

Afin d'interpréter l'ensemble des résultats issus de l'analyse transcriptomique, nous nous sommes intéressés aux groupes de transcrits modulés à chaque niveau de dose. Nous avons tout d'abord soumis nos différentes listes de gènes à une classification selon la « Gene Ontology » (GO), puis à une analyse par le programme Ingenuity, permettant d'identifier les différents processus biologiques et fonctions moléculaires affectés, ainsi que la localisation cellulaire de ces gènes.

Les 3 listes de gènes, comprenant les transcrits différentiellement accumulés aux 3 niveaux de doses de FM, sont dans un premier temps soumises à une classification selon la « GO » par le module « Functional Genomic » du logiciel Spotfire. Les voies de biosynthèse des acides gras et des stéroïdes apparaissent clairement affectées aux 3 différents niveaux de dose de FM.

Nous avons ensuite mené le même type d'analyse à partir des listes de transcrits spécifiquement modulés à chaque niveau de dose de FM. Différentes fonctions biologiques apparaissent être spécifiquement affectées à chaque niveau de dose. La majorité des transcrits modulés à la faible dose semblent être impliqués dans les étapes relatives à la spermiogenèse et à la maturation de sperme, ceux modulés à la dose intermédiaire participeraient aux processus de régulation de l'apoptose. A la forte dose, nous constatons un enrichissement de la liste de transcrits significativement altérés, en transcrits impliqués dans la voie de biosynthèse de stéroïdes.

En comparant les résultats obtenus par ces 2 analyses, nous constatons que de nombreux transcrits communément modulés aux 3 niveaux de dose sont impliqués dans la voie de biosynthèse des stéroïdes. D'après l'analyse des profils d'accumulation, une majorité de ces transcrits montre une augmentation dose-dépendante de leur niveau d'accumulation en fonction de la dose de FM administrée.

Afin d'approfondir cette analyse et de comprendre la signification biologique des modulations moléculaires observées, nous avons utilisé le programme Ingenuity Pathway Analysis (IPA). Nous avons analysé les réseaux d'interaction des gènes dérégulés par le FM, puis les principales fonctions biologiques affectées. Les listes globales des gènes présents sur les puces issus des 3 analyses correspondant aux 3 niveaux de doses de FM, incluant les transcrits différentiellement accumulés et répondant aux critères de sélections (« focus gene ») sont importées dans le programme IPA. Les résultats obtenus sont présentés dans la [figure 31](#).

Un certain nombre de réseaux, communs ou spécifiques à chaque niveau de dose, apparaît statistiquement modulé par le FM. Ainsi 6, 10 et 20 réseaux sont statistiquement modulés (score ≥ 10) respectivement par 6, 30 et 150 mg/kg/j de FM. Ces réseaux comprennent de nombreuses fonctions relatives au métabolisme des lipides, à la croissance et prolifération cellulaire, au cancer, à la mort cellulaire, au métabolisme des xénobiotiques, à la réponse immunitaire ou encore des fonctions étroitement lié à l' appareil reproducteur.

A. 6 mg/kg/j :

Δ ID	Genes	Score	Focus Genes	Top Functions
1	ACAA2* , ACSL4* , AKR1B10 , CAPZA2* , DECR1* , DPT , EGLN2 , EMD , ERBB2* , FDFIT1* , FGF2* , GBE1 , HAS2 , HDAC1 (includes EG:3065)* , HIF1A* , HRA5 , IFITM2* , IGFBP2 , IGFBP4* , LINC1* , LIFS* , LMNA , LXN* , MM9 , NPTN* , SC4MOL* , SPP1 , SPRY1 , SQLE* , SREBF1* , STAR , TM7SF2 , TSC22D1* , VGF , WBP5	26	16	Cellular Development, Cellular Growth and Proliferation, Reproductive System Development and Function
2	ALDH7A1* , ARG1 , CD36 , CD163* , CHRNA1 , CHRNA3 , CHRNA7* , CHRNA9 , CHRNA10 , CHNRB3 , CMIP , CST3* , CTSH , CVBSR3* , CYP11A1 , HLA-DQA1* , HLA-DQB2* , HP* , HRA5L53* , IFNG , IL6 , IL17F , IL23A , INDO , ILK8 , MYH9 , S100A8* , SCARB1* , SH3PX2A , SP110* , SRC* , SV2B* , TGM1 , VTG1 , WARS*	20	13	Cardiovascular Disease, Psychological Disorders, Neurological Disease
3	AIP , AKT1* , ANKA1* , ASS , CHRM1* , CROT* , DHX9* , ECHS1 , FXDY5* , GGPC* , GFAP , GHI , HIPK3 , HNRPH2 , HSD3B5 , IGFALS , IRS4 , MGST1 , NDRG2* , NTS (includes EG:4922)* , PCOLCE , PDIAS , PRDX3 , PRL , PRLBP , PRLR* , PRM1 , RALB , TKT , TNP1* , TNP2 , TSC1 , UBB* , YB2 , YWHAZ*	20	13	Endocrine System Disorders, Gene Expression, Hematological Disease
4	AGTR2* , ARG1 , BNIP3L* , C9ORF26* , CASP3* , CD52* , CDH1* , CYP17A1 , DHRS4* , EDA2R , F13A1 , FADS1* , G6PD* , GARS* , GCNT1 , GD12 (includes EG:2665)* , HADH2* , HAS1 , HTRA1* , IGSF3 , IL13 , IL15 , ITGAE* , NEU3 , NFLB1A , NGFRAP1* , PAK1* , PDGFC , PEBP1* , PGRCM1* , PSMB8 , PVRL2* , S100A8* , SF1* , TGFB1*	16	11	Hematological System Development and Function, Tissue Morphology, Cell Death
5	ABCD2 , ADHC (includes EG:126) , AQP7 , BRD8* , CALB1* , CEBPB , CPT1A* , CTRB1* , DDC* , GPDI* , GRP , GSTA1 , HCA112* , HERC1* , HMGCS2* , HMGNS3* , INS1 , JMJD1C , LR8 , MPG* , NRGN* , PER1* , PLIN , RETSAT* , RGNEF* , RHOA* , RXRRA* , SLC10A1* , THBD , THRBB , TRIP10 , TRIP11 , TSC2 , UCP3 , ZNHIT3	14	10	Lipid Metabolism, Small Molecule Biochemistry, Nervous System Development and Function

B. 30 mg/kg/j :

Δ ID	Genes	Score	Focus Genes	Top Functions
1	APH1A* , APH1B (includes EG:83464) , BCL2L1* , BCL2L1B* , CASP3* , CCNC* , CD24* , CSE2 , CYP11A1 , DCC , FDX1* , FN1A , GSTA1 , GSTA5* , GSTM1 , GSTM2 , GSTM3 (includes EG:14864) , GSTP1 (includes EG:24426) , HERPUD1* , HRA5 , HSPD1* , HSPD1* , IFITM2* , IL18* , IL12A , NCSTN , NGFRAP1* , PDIAS , PSEN2* , PSEN2* , PSEN2* , RPL39 , SC4MOL* , SERPINA3* , SOD1* , VCAM1	23	18	Cell Signaling, Post-Translational Modification, Cellular Compromise
2	ACADM , AH4 , CFB , CTSB , ENTPD5 , G0S2* , GHR1 , GJA1* , GSTA4 , HLA-F* , HP* , IL23A , IRF8* , LCA1* , LIPE* , LITAF* , MARCKSL1 , MGMT , MGST1 , NEDD4* , NR1P1 , PSMB8 , PSMB9 , PSME1 , PSME2 , PXMP2* , RARB* , SLCIA3* , STAR , TAB1 , THBD , TNF , VCL , VIP* , YY1*	20	16	Drug Metabolism, Endocrine System Development and Function, Lipid Metabolism
3	COL4A1* , CTSH , DDC* , EGLN2 , EMP3 , FDXR , FM02* , GSTM5 , HIF1A* , HIF3A , HIST1H1C , HSP90A1* , HSPA11 , IGFBP2 , JMJD1C , NRT15 , MDH1* , MGST2 , MTIL , NDRG1* , P4HA1 , PERP (includes EG:64065) , PGK1* , PLAGL1* , PP1F* , PTP4A1* , S100A2 , SERPINE5* , SERPINE2* , SFTPB* , SMARCA4* , STIP1 , TAF9* , THRBB* , TF53*	18	15	Drug Metabolism, Endocrine System Development and Function, Lipid Metabolism
4	ACAA2* , CD163* , CES1 (includes EG:1066) , CR1F1 , DECR1* , DIO1* , DPT , ERBB2* , ETFB* , FCGR1B , GBP2* , HBA2 , HBD , HLA-DQA1* , HLA-DQB2* , HP* , IFIT2* , IFNG , IL6 , IL17F , IL18RAP , IL1F9 , INDO , ILK8 , LARGE , LGALS1 , LY86 , PTFR8* , SP110* , SV2B* , TGM1 , TMEM158* , VTG1 , WARS* , WBP5	18	15	Immune Response, Immunological Disease, Neurological Disease
5	AK3* , C3AR1 , CALCR* , CD52* , C5SRP1 , CYP17A1 , EMR1* , FADS1* , FAM50A* , FPR1 (includes EG:2358) , G6PD* , HADH2* , HGF* , HLI1* , HLI3 , IL23A , IRF8* , IRF8* , IRF8* , KIAA1276 , NR1T7* , ODXL1* , PLR , NFYB* , OAT* , PDGFC , PGRCM1* , RLOD1* , RNOC , PRKAA1 , PSMA3 , SLC7A7* , STESIA4* , TAX1BP3 , TGFB1* , TNFSF11	16	14	Cardiovascular System Development and Function, Organismal Development, Cancer
6	ACAT2* , ADH7 , ADRA1A , AKR1B10 , ALAS1 , ALDH1A1 , AP3D1* , ASC2 , CA3* , CD244* , CD247 , CEP350* , CCOH1* , CROT* , CSTA* , C17H , CYP11B1* , CYP2D9 , EIF252* , FGF9* , GELC* , GGLY* , GHI , HCA112* , HRA5L53* , JUN , LAMP2* , LR8 , NFLB1Z , NIPSNAP1 , PRLR* , PTPRN , RNH1 , SCIN* , TKT	16	14	Gene Expression, Connective Tissue Development and Function, Skeletal and Muscular System Development and Function
7	ACADS* , CD36 , CD81 , CS1* , DAG1* , DHRS4* , DMD* , EBP* , IFITM1 , IGFBP2 , IGFBP3* , IGSF8 (includes EG:93185) , IL15 , ITGA4 , ITGA7* , ITGB1* , ILRB1C , LAMAL , LAMA2* , LAMB1 , LAMC1* , LTA , LYN* , NDP , PRPPA , PRIL4CA , PSMCS , PSMDS , SAT* , SGCA , SGCB , SGCD , SLC7A8* , SPP1 , THBS2	16	14	Genetic Disorder, Skeletal and Muscular Disorders, Cell-To-Cell Signaling and Interaction
8	ABCE1B , ACOX1* , ADHC (includes EG:126) , ALAD* , APOC1 , APOE* , AQP7 , BRD8* , CALB1* , CASR , CEP350* , CIDEA , CYP4A22* , FABP1* , FABP2 , FABP3 , FABP4 , GPDI* , HMGCS2* , INS1 , IPC , PEX11A* , PILR , PLIN , PPARG , PTPRF , RETSAT* , RGNEF* , RG52* , RHOA* , RXRRA* , SDHB , SLC27A1* , TIMP2* , TRIP10	15	13	Lipid Metabolism, Molecular Transport, Small Molecule Biochemistry
9	ACSL4* , ARF5 , ASS , CALD1* , DDX11 , DDX3X* , E2F6 , ECHS1 , EGLN1* , GCN1L1 , GSN* , HNRPU* , L1HA1 , LMBN1 , MYC , MYCBP2* , NOP5/NOP58* , PDGFC , PRDX1 , PRDX3 , RAB11FIP3* , RAB11FIP4 , RAB9A* , RABEPK* , REEP5 , RPL19* , RPL22 , SCPEP1* , SLC2A1 , SP1* , TERT* , TSPO , TXNRD1* , UGT1A8 (includes EG:54576)* , YWHAZ*	15	13	Gene Expression, Cell Cycle, Lipid Metabolism
10	ACADVL* , ACP6* , AL1T1* , AL1T2* , ALCAM* , CAD* , CD226 , CDC42EP1 , CDKL3 , CTSD* , CYP2B6* , CYP4F8 , DGKD , DIO3* , EGF , ES1 (includes EG:13884)* , ETFDH* , F2 , FXDY5* , GRN* , HSD11B1* , IER2* , INSL3 , LEP , MATR3* , PDE3B* , PRKAA2* , RAMP1 , SCD* , SGC2 , SERPING1* , STIL11 , TMED9* , TNFRSF12A* , WAV3	15	13	Cell-To-Cell Signaling and Interaction, Cardiovascular Disease, Carbohydrate Metabolism

Figure 31 : Réseaux de gènes affectés suite au traitement FM aux doses 6, 30 et 150 mg/kg/j
Analyse des gènes modulés à 6 mg/kg/j (A) et 30 mg/kg/j (B).

Un score de 5 équivaut à une p-value de 10^{-5} . Les gènes en gras correspondent aux gènes répandant aux critères de sélection. Chaque réseau peut contenir un maximum de 35 gènes.

Nous nous sommes intéressés au métabolisme des lipides qui apparaît être modulé aux 3 niveaux de dose de FM. Cette fonction est retrouvée dans le réseau n° 5 à 6 mg/kg/j, dans les réseaux n° 2, 3, 8 et 9 à 30 mg/kg/j et dans les réseaux n° 5, 6, 11, 12 et 18 à 150 mg/kg/j. La [figure 32](#) représente les transcrits statistiquement modulés par le FM et impliqués dans cette voie métabolique.

Nous constatons qu'un nombre croissant de transcrits est affecté de façon dose-dépendante, avec 16, 45 et 54 transcrits modulés par le traitement FM respectivement à 6, 30 et 150 mg/kg/j. Les transcrits participant à la biosynthèse de la testostérone, incluent les enzymes Cyp11a1, Cyp17a1, Hsd3b1, ainsi que les protéines de transport du cholestérol Star, Scarb1, Scp2, ApoE. Le FM module également le niveau d'accumulation de transcrits impliqués dans la synthèse des acides gras et du cholestérol, précurseur indispensable à la biosynthèse de la testostérone. Parmi ces transcrits on retrouve, entre autre, les transcrits participant au métabolisme des acides gras : Acadvl, Acadl, Acads, Acadm, Acat2, Acsbg1 ; au transport des acide gras : Crot, Cd36, Fapb3 ; les transcrits impliqués dans la synthèse et la dégradation des corps gras : Hadha, Idh1, Hmgcs1&2 ; ainsi que les transcrits participant à la biosynthèse des stérols : Idi1, Ebp, Lss, Dhcr7. La [figure 33](#) représente l'ensemble de ces transcrits qui sont majoritairement sur-accumulés suite à une exposition répétée au FM pendant 28 jours.

Nous avons également observé que parmi ces transcrits impliqués dans la voie de biosynthèse des stéroïdes, beaucoup sont modulés communément aux 3 niveaux de dose de FM. Trois transcrits, Acca2, Echs1, Hmgcs2, impliqués dans la synthèse du cholestérol ; trois enzymes stéroïdogéniques, Cyp11a1, Cyp17a1 et Hsd3b1 ; ainsi que les protéines de transport du cholestérol Star et Scarb1, apparaissent sur-accumulés significativement aux doses de 6, 30 et 150 mg/kg/j de FM. De plus, en analysant leurs profils d'accumulation, nous constatons, pour une majorité d'entre eux, une augmentation dose-dépendante de leur niveau d'accumulation en fonction de la dose de FM administrée.

Ainsi, dans cette étude, nous démontrons la capacité du FM à perturber de façon dose-dépendante la voie de biosynthèse des stéroïdes. Nous avons pu corréler les modulations des profils d'accumulation de nombreux transcrits sur-accumulés suite au traitement avec l'augmentation dose-dépendante du niveau de testostérone plasmatique mesuré chez les animaux traités quotidiennement aux 3 niveaux de FM pendant 28 jours (voir Publication 1).

Métabolisme des lipides

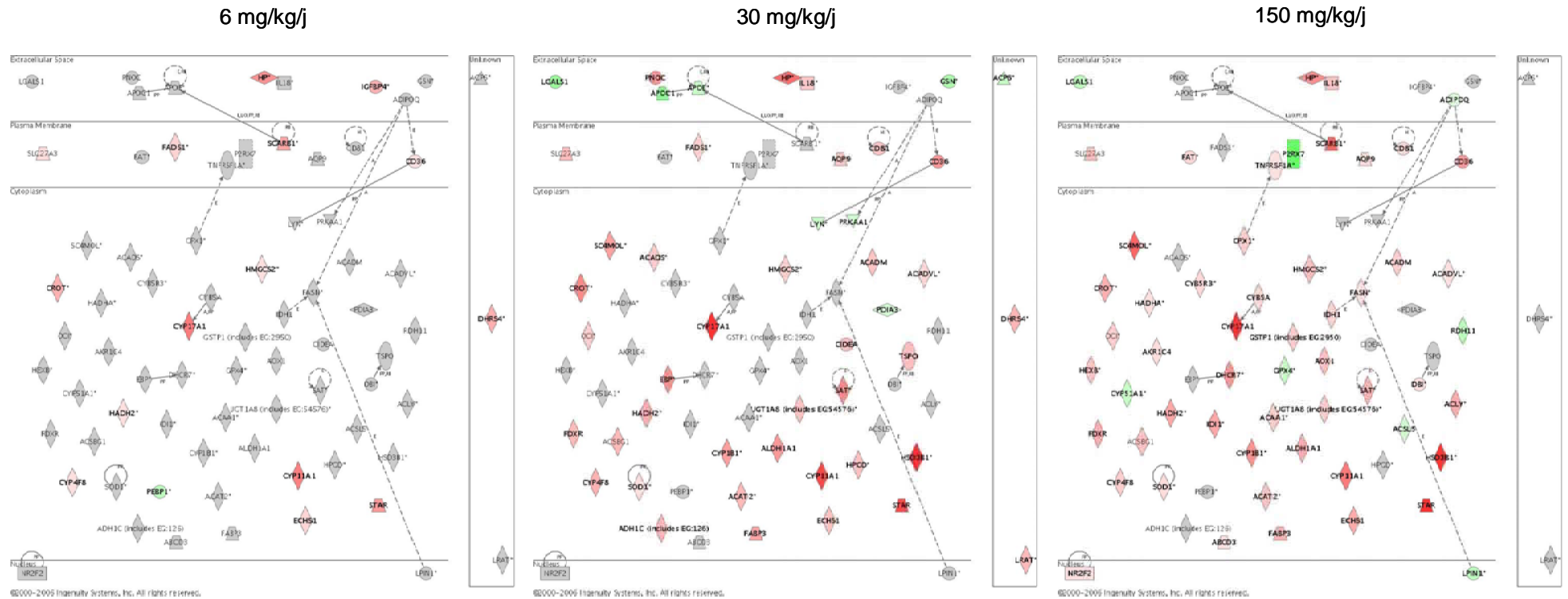


Figure 32 : Transcrits impliqués dans le métabolisme des lipides, dont le niveau d'accumulation est modulé par le FM après 28 jours de traitement. L'intensité de coloration des transcrits indique le degré de sur- (rouge) ou de sous-accumulation (vert). Les transcrits en gris correspondent aux gènes présents sur la puce mais ne répondant pas aux critères de sélection. Les transcrits en gras correspondent aux « focus gene ». Les flèches représentent les relations rapportées dans la littérature, entre les différents gènes/produits de gènes.

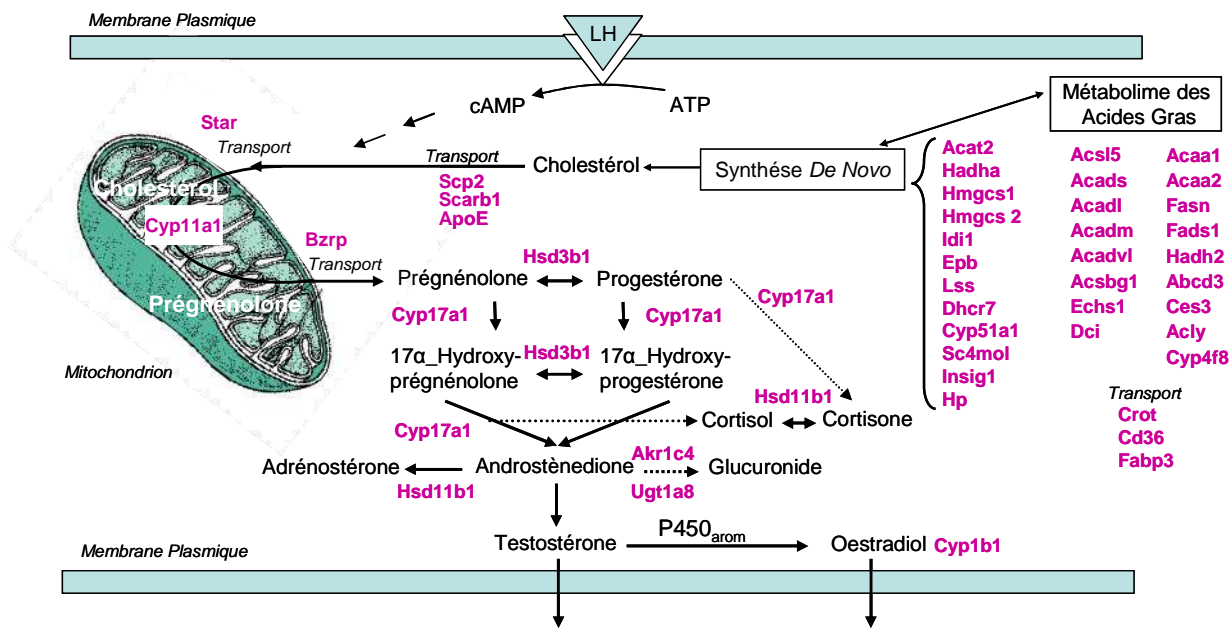


Figure 33 : Représentation de la voie de biosynthèse de la testostérone.

Les transcrits modulés par au moins un niveau de dose de FM sont localisés par leur nom de gène.

Nous avons ensuite évalué le comportement des gènes androgéno-dépendants dans notre étude. D'après la littérature, seuls quelques gènes sont connus pour être androgéno-dépendants au niveau du testicule.

Le facteur de transcription Pem (Placentae and embryos oncofetal gene) (Lindsey and Wilkinson 1996; Sutton *et al.* 1998) et le protooncogène c-myc (Lim *et al.* 1994) ont été décrits comme étant induits par les androgènes dans les cellules de Sertoli. Dans notre étude, aucune modulation du niveau d'accumulation de ces transcrits n'a été observée.

L'isoenzyme de détoxification GST α (Benbrahim-Tallaa *et al.* 2002) exprimée dans les cellules de Sertoli, ainsi que les transcrits Hsd3b1 et Cyp17a1 (Stalvey and Clavey 1992; Burgos-Trinidad *et al.* 1997) exprimés dans les cellules de Leydig, sont retrouvés sur-accumulés aux 3 niveaux de dose de FM. De plus, nous observons une augmentation dose-dépendante du niveau d'accumulation de ces 3 transcrits.

Il a été mis en évidence une inhibition de l'expression des gènes Hsd3b1 et Cyp17a1 par la testostérone via le AR (Stalvey and Clavey 1992; Burgos-Trinidad *et al.* 1997). Le fait d'observer une augmentation du niveau d'accumulation de ces transcrits dans notre étude, en présence d'une concentration importante de testostérone plasmatique, confirme la capacité du FM à antagoniser la liaison de la testostérone sur le AR, empêchant ainsi l'inhibition de l'expression de ces gènes par le RA.

Plusieurs travaux, rapportés dans la littérature, décrivent également des modifications d'expression génique semblables à celles observées dans notre étude après 28 jours de traitement au FM. Ainsi, de précédents travaux menés par le groupe de A.H. Payne ont montré une augmentation de l'activité enzymatique de certaines enzymes stéroïdogéniques en réponse à une administration de LH/hCG (O'Shaughnessy and Payne 1982). Ce même groupe a montré que l'induction de la transcription des gènes Cyp11a1, Cyp17a1 et Hsd3b1 *in vitro*, sur des cultures de cellules de Leydig, était dépendante d'une stimulation via la LH et plus spécifiquement par l'AMPc (Youngblood and Payne 1992). Clark et collaborateurs ont également décrit la capacité de la LH, de la hCG ou encore d'un analogue à l'AMPc, à induire la synthèse de la protéine Star dans des cellules de Leydig en culture (Clark *et al.* 1994).

De plus, certains transcrits, modulés dans notre étude et participant au métabolisme des lipides, ont déjà été décrits comme étant affectés par le FM. Ohsako et collaborateurs ont montré, par des analyses en PCR semi quantitatives, une augmentation significative de l'expression des gènes Cyp11a1, Cyp17a1 et Hsd3b1 après un traitement au FM à 25 mg/kg/j pendant 6 jours chez le rat adulte (Ohsako *et al.* 2003). Le gène Star a également été décrit comme sur-exprimé chez la souris, après une seule administration de FM (2mg/souris) (Zhou *et al.* 2005).

L'ensemble de ces données moléculaires démontre l'effet antiandrogénique du FM sur l'axe hypothalamus-hypophyse-testicule, et son implication dans l'induction de la sécrétion de la LH par l'hypophyse et de la testostérone par les cellules de Leydig. En effet, le FM est capable de bloquer le rétrocontrôle de la testostérone au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse (Viguié-Martinez *et al.* 1983), induisant ainsi une augmentation de la sécrétion de LH par l'hypophyse, et en conséquence, la stimulation de la synthèse de testostérone par les cellules de Leydig. Le FM apparaît donc être responsable de l'induction du niveau d'accumulation de transcrits participant à la stéroïdogénèse de façon directe au niveau du testicule et/ou indirectement via l'induction de la sécrétion de la LH au niveau de la structure hypothalamus/hypophyse.

Nous nous sommes ensuite intéressés aux transcrits impliqués dans la croissance et la prolifération cellulaire ainsi que les transcrits associés au cancer. Les fonctions de croissance et de prolifération cellulaires sont principalement retrouvées altérées à la faible dose de FM (réseau n°1), alors que de nombreux réseaux comportant la fonction relative au cancer sont observés à la forte dose de FM (réseaux n°2, 7, 10, 13, 16, 17 et 19). On constate une augmentation du nombre des transcrits modulés et impliqués dans les fonctions de prolifération cellulaire et de cancer en fonction de la dose de FM administrée, avec 14, 43 et 34 transcrits affectés respectivement aux doses de 6, 30 et 150 mg/kg/j (Figure 34).

En regardant le profil d'accumulation des transcrits PcnA (Proliferating cell nuclear antigen) et Cycline D, connus pour être des marqueurs de prolifération cellulaire, nous n'avons pu mettre en évidence aucune modulation du niveau d'accumulation de ces transcrits suite à une exposition au FM. Il serait intéressant de regarder le profil d'accumulation de ces transcrits au niveau protéique. Parmi les transcrits décrits dans la littérature pour être impliqués dans les étapes de prolifération et de différenciation au cours du développement des cellules de Leydig chez le rat (Ge *et al.* 2005), quelques uns sont retrouvés modulés après une exposition de 28 jours au FM. Ainsi, la cycline G1 (Ccng1) et l'oncogène c-jun sont observés sur-accumulés à la forte dose de FM.

Nous avons également observé la sur-accumulation, aux doses intermédiaire et forte, du transcrit Insl3 (Insulin-like 3 protein). La protéine Insl3, exprimée par les cellules de Leydig, est connue pour avoir une action paracrine au niveau du testicule. Elle est impliquée dans la descente testiculaire lors du développement embryonnaire. De plus, de récentes données suggèrent que la production d'Insl3 par les cellules de Leydig chez l'adulte serait dépendante de la différenciation de ces cellules. Cette protéine Insl3 semble être de plus en plus utilisée comme marqueur spécifique de différenciation de cellules de Leydig (Ferlin *et al.* 2006).

Le niveau d'accumulation de certains transcrits appartenant à la voie de l'IGF (Insulin growth factors) apparaît également être altéré suite à l'exposition au FM. Certaines protéines de liaison de l'Igf-1 comme Igfbp-2, Igfbp-3, Igfbp-4 et Igfbp-7 semblent être modulées par le FM. Igf-1 est un peptide connu pour être fortement impliqué dans la régulation de la croissance cellulaire et pour avoir des fonctions mitogénique et antiapoptotique (Grimberg and Cohen 2000). Igf-1 apparaît être un facteur autocrine et/ou paracrine capable de contrôler l'activité proliférative des cellules de Leydig (Wang and Hardy 2004). L'activité biologique de ce peptide est modulée par des protéines de liaison, les Igfbp. Peters M.A. et collaborateurs ont suggéré l'implication de certaines protéines de ce système dans le développement de tumeurs de cellules de Leydig (Peters *et al.* 2003).

Prolifération cellulaire & Cancer

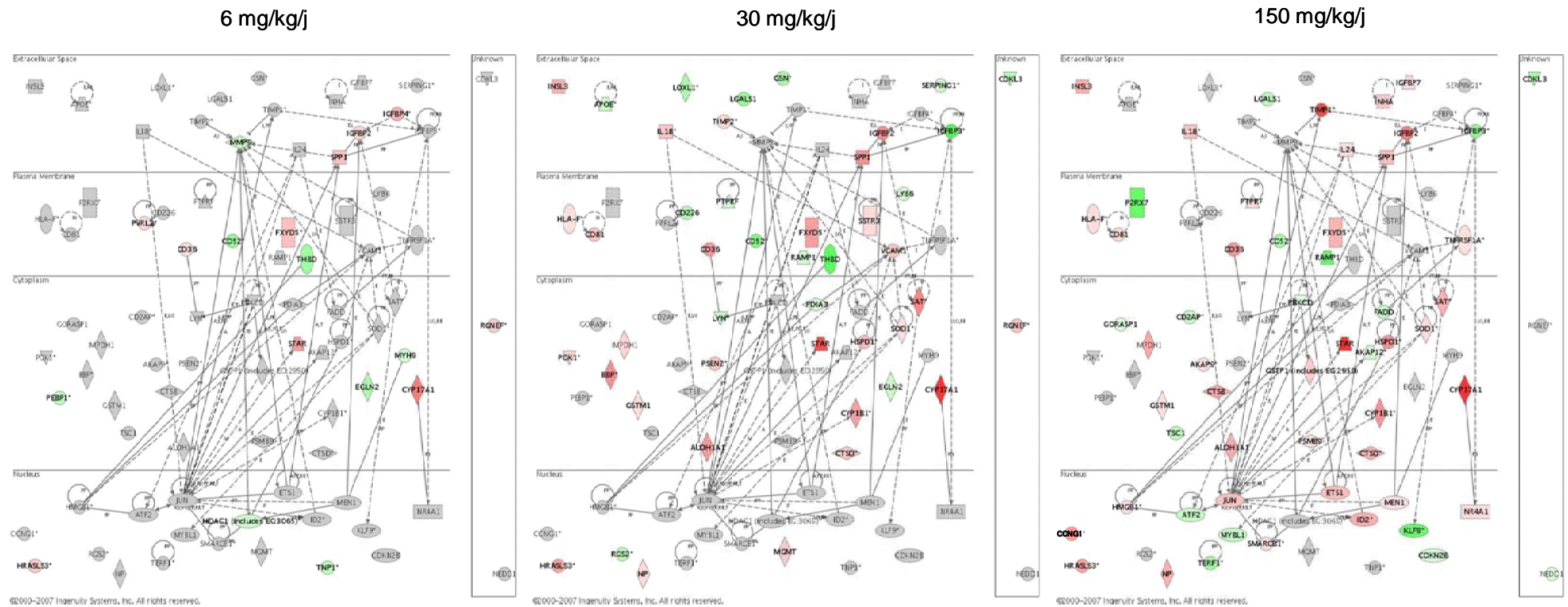


Figure 34 : Transcrits impliqués dans la prolifération cellulaire et le cancer, dont le niveau d'accumulation est modulé par le FM après 28 jours de traitement.

L'intensité de coloration des transcrits indique le degré de sur- (rouge) ou de sous-accumulation (vert). Les transcrits en gris correspondent aux gènes présents sur la puce mais ne répondant pas aux critères de sélection. Les transcrits en gras correspondent aux « focus gene ». Les flèches représentent les relations rapportées dans la littérature, entre les différents gènes/produits de gènes.

De plus, l'Inhibine α (Inha) apparaît être sur-accumulée suite à l'exposition au FM. Cette protéine appartient à la superfamille des TGF β (Transforming growth factor- β) et semble agir à la fois comme une hormone et comme un facteur de croissance et de différenciation (Meunier *et al.* 1988). A l'âge adulte, Inha semble être sécrétée majoritairement par les cellules de Sertoli (Majdic *et al.* 1997) mais également par les cellules de Leydig matures et par des tumeurs de cellules de Leydig (de Winter *et al.* 1992).

Une sous-accumulation du transcrit proapoptotique Fadd est également observée suite au traitement FM.

A l'heure actuelle les processus de différenciation et de prolifération des cellules de Leydig sont mal compris : le rôle de la LH est incertain, et l'implication de la FSH et de divers facteurs régulant l'activité proliférative des cellules de Leydig est mal définie. Chez le rat adulte, des études *in vivo* ont montré que la différenciation et la prolifération des cellules de Leydig dépendaient des gonadotrophines mais que ces phénomènes pouvaient se mettre en place en l'absence de la LH. Sous l'action de la FSH, les cellules de Sertoli sécrèteraient divers facteurs qui seraient capables d'agir de manière paracrine et/ou autocrine sur les cellules de Leydig, modulant l'activité proliférative de ces cellules (Teerds *et al.* 1999; Sriraman *et al.* 2005). Ainsi, certains facteurs retrouvés affectés dans notre étude, pourraient potentiellement contribuer à l'hyperplasie des cellules de Leydig observée suite à l'exposition au FM, en induisant les processus de différenciation et prolifération cellulaires, ainsi que d'inhibition de l'apoptose.

L'analyse par la « Gene Ontology » ainsi que par le programme Ingenuity, a également révélé l'altération, à la faible dose de FM (6 mg/kg/j), de transcrits impliqués dans l'étape de spermiogenèse et plus spécifiquement, dans la condensation de la chromatide lors de la transformation des spermatides en spermatozoïdes. Chez de nombreuses espèces animales, la compaction de la chromatine se fait en 2 étapes : le remplacement des histones associés à la chromatine par des protéines nucléaires de transition (TNPs), puis le remplacement de ces TNPs par des protéines nucléaires, les protamines (PRMs) (Dadoue 2003). Ces protéines sont nécessaires à la condensation de la chromatine et au développement de spermatozoïdes fonctionnels. Les protéines nucléaires de transition, Tnp1 et Tnp2, et les protamines, Prm1 et Prm2, sont les principales protéines nucléaires impliquées dans ce processus et ont été décrites comme exprimées dans les spermatides chez les rongeurs. Dans notre étude, nous avons observé la sous-accumulation des transcrits Tnp1 et Tnp2 ainsi que Prm1, à la dose de 6 mg/kg/j. Des études sur souris transgéniques, déficientes en expression pour ces protéines TNPs et/ou PRMs, montrent un défaut de compaction de la chromatine, une diminution du nombre et de la motilité du

sperme au niveau de l'épididyme, ainsi que des phénomènes d'infertilité (Oliva 2006). De plus, Aleem M. et collaborateurs ont montré une diminution du niveau de protamine dans le testicule suite à une exposition à l'acétate de cyprotérone, antiandrogène stéroïdien (Aleem *et al.* 2005a). Ce groupe a également montré la capacité de certains œstrogènes et antiœstrogènes (Tamoxifen) à affecter l'expression des gènes codant pour les TNPs et PRMs chez le rat adulte (Aleem *et al.* 2005b; Aleem *et al.* 2006).

Le transcrite *Pebp1* est également sous-accumulé à la dose de 6 mg/kg/j. Le gène *Pebp1* code pour une protéine exprimée au niveau de la membrane des spermatozoïdes et qui semble être impliquée dans le phénomène de capacitation lors de la fécondation (Gibbons *et al.* 2005).

Dans la littérature, plusieurs études décrivent l'effet du FM sur la spermatogenèse avec l'observation de phénomènes de dégénération et de diminution du nombre de spermatocytes et de spermatides au sein de testicules d'animaux traités au FM (Viguiert-Martinez *et al.* 1983; Okahara *et al.* 2000), ainsi que de diminution du nombre de spermatozoïdes viables et d'augmentation de la fréquence de spermatozoïdes anormaux au niveau de l'épididyme de rats adultes traités à de fortes concentrations de FM (Okahara *et al.* 2000; Andrews *et al.* 2001; Kunimatsu *et al.* 2004). Cependant, les mécanismes par lesquels le FM perturbe la spermatogenèse sont à ce jour mal compris. Dans notre étude, nous avons observé, à la faible dose de FM, la modulation du niveau d'accumulation de transcrits codant pour des protéines participant à l'étape de spermiogenèse. A cette même dose, nous n'avons constaté aucune altération histologique au niveau de l'épididyme. Par contre, chez certains rats traités à la forte dose de FM, nous avons noté une augmentation du nombre de cellules germinales anormales et de débris dans l'épididyme, ainsi qu'une oligospermie marquée pour un des ces rats, résultats cohérents avec ceux rapportés dans la littérature. Les modulations moléculaires observées dans notre étude peuvent éventuellement être considérées comme une piste à approfondir afin d'expliquer les phénomènes d'altération de la spermatogenèse et de réduction de fertilité constatés chez certains animaux traités au FM.

Ainsi, cette étude nous a permis de démontrer la capacité du FM à perturber de façon dose-dépendante la voie de biosynthèse des stéroïdes. Nous avons pu corréler les modulations des profils d'accumulation de nombreux transcrits et protéines sur-accumulés suite au traitement avec l'augmentation dose-dépendante du niveau de testostérone plasmatique mesurée chez les animaux traités quotidiennement aux 3 niveaux de FM pendant 28 jours. De plus, nous avons obtenu une très bonne corrélation entre les résultats protéomique et transcriptomique relatifs à cette voie métabolique. Le FM apparaît être responsable de l'augmentation du niveau d'accumulation de transcrits participant à la

stéroïdogénèse de façon directe au niveau du testicule et/ou indirectement via l'induction de la sécrétion de la LH au niveau de la structure hypothalamus/hypophyse.

Par ailleurs, nous avons identifié certains facteurs qui semblent être capables d'agir sur les cellules de Leydig et de moduler leur activité proliférative. La perturbation de ces facteurs par le FM, en présence d'un phénomène d'hyperplasie des cellules de Leydig, nécessite des analyses plus poussées afin de comprendre leurs véritables rôles dans ce processus de prolifération, permettant ainsi une meilleure compréhension des processus de différenciation et de prolifération des cellules de Leydig aujourd'hui encore mal définis.

Ces analyses nous ont également permis d'identifier des modulations moléculaires qui pourraient éventuellement nous permettre d'expliquer et de mieux comprendre les phénomènes de perturbation de la spermatogénèse induits par le FM. Des analyses complémentaires apparaissent néanmoins être nécessaires afin de conforter et de renforcer ces observations.

2. Etude aigüe

La deuxième partie de ce travail a consisté à observer les effets précoces du FM sur les testicules au niveau moléculaire afin d'appréhender les mécanismes d'action de cet antiandrogène sur l'appareil reproducteur mâle, mais également à évaluer la capacité des outils « -omiques » à détecter des modulations des profils d'accumulation de transcrits et/ou de protéines, en l'absence de toute lésion tissulaire apparente, permettant une prédiction des effets du FM observés au niveau du testicule après une exposition répétées à long terme.

Nous avons réalisé une étude de toxicité aigüe : des rats mâles Sprague-Dawley ont reçu 150 mg/kg de FM par gavage et ont été sacrifiés 1 h, 2 h, 8 h, 24 h et 48 h après cette administration unique. Des rats adultes de 10 semaines (6 par groupes) ont été utilisés dans cette étude afin d'être dans des conditions similaires à celles de la fin de l'étude sub-aigüe de 28 jours. Le déroulement des différentes phases de cette étude, à savoir, les conditions d'hébergement, d'administration du FM et de sacrifice des animaux, est semblable à celui de l'étude sub-aigüe (voir Publication 1).

Plusieurs paramètres conventionnellement évalués dans les études de toxicologie ont été mesurés dans cette étude aigüe. Les poids de l'hypophyse, de la prostate ventrale et du testicule ainsi que les concentrations en LH et testostérone plasmatique ont été mesurés. Une analyse histologique du testicule a également été effectuée. Ces analyses de toxicologie conventionnelles ont été menées de la même façon que pour l'étude sub-aigüe (voir Publication 1). Des analyses protéomique et transcriptomique ont également été réalisées à partir du testicule à différents temps de sacrifice, selon les protocoles détaillés dans la partie « matériels et méthodes ».

2.1 Résultats de toxicologie

Dans le but de choisir des temps de sacrifice potentiellement les plus intéressants en vue des analyses protéomique et transcriptomique, nous avons tout d'abord effectué une analyse pharmacocinétique afin d'évaluer la concentration en FM et en 2-hydroxyflutamide plasmatique et intratesticulaire, en fonction du temps, après une seule administration de 150 mg/kg de FM. Les dosages de concentration ont été réalisés par spectrométrie de masse, à partir des échantillons de plasma et des fractions de testicules prélevés aux différents temps de sacrifice (1 h, 2 h, 8 h, 24 h et 48 h) ([Figure 35](#)).

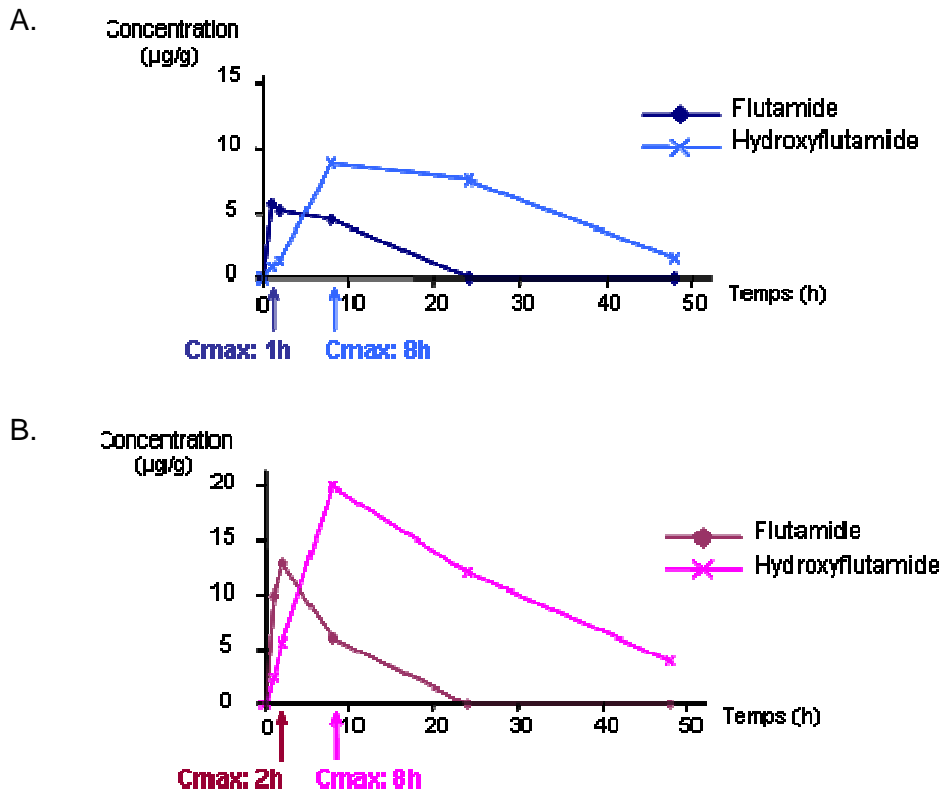


Figure 35 : Dosage du niveau de FM et d'hydroxyflutamide plasmatique (A) et testiculaire (B), 1 h, 2 h, 8 h, 24 h et 48 h après une seule administration de FM. La concentration maximale (Cmax) du FM et de l'hydroxyflutamide plasmatique est observée à 1 h et 8 h respectivement ; le Cmax du FM et de l'hydroxyflutamide testiculaire est observé à 2 h et 8 h respectivement .

Nous constatons que le FM est rapidement absorbé, sa concentration plasmatique étant à son maximum ($5.73 \mu\text{g/g} \pm 0.81$) 1 heure seulement après son administration par gavage. Le FM se retrouve rapidement au niveau du testicule car on observe que sa concentration atteint son maximum ($12.86 \mu\text{g/g} \pm 2.52$) 2 heures après son administration. Le FM est métabolisé par le cytochrome P450 Cyp1A2 au niveau du foie en 2-hydroxyflutamide. Ainsi, une diminution de la concentration en FM parallèlement à une augmentation de celle en 2-hydroxyflutamide est observée. Les concentrations plasmatique et testiculaire en 2-hydroxyflutamide atteignent leurs maximums ($8.89 \mu\text{g/g} \pm 2.54$ et $20.05 \mu\text{g/g} \pm 2.784$, respectivement) 8 heures après l'administration de FM. Le niveau en 2-hydroxyflutamide décroît ensuite progressivement jusqu'à atteindre un niveau faible, 48 heures après l'administration orale du FM. Le FM et son métabolite actif ont tendance à s'accumuler rapidement au niveau du testicule, organe cible de cet antiandrogène et exprimant le AR sur lequel le 2-hydroxyflutamide se fixe.

Cette analyse préliminaire nous a permis de choisir certains temps de sacrifice utilisés dans les analyses protéomique et transcriptomique. Ainsi, nous avons focalisé notre attention au temps 8 h, temps où le 2-hydroxyflutamide, métabolite actif du FM, est à sa concentration maximale dans le testicule, et aux temps 24 h et 48 h où la concentration en 2-hydroxyflutamide décroît progressivement jusqu'à sa quasi élimination de l'organisme.

Dans un premier temps, nous avons voulu confirmer l'activité antiandrogénique du FM dans notre étude. Nous avons effectué des dosages de LH et testostérone plasmatique. La [figure 36](#) représente le niveau de testostérone chez les animaux traités par rapport aux contrôles, aux différents temps de sacrifice.

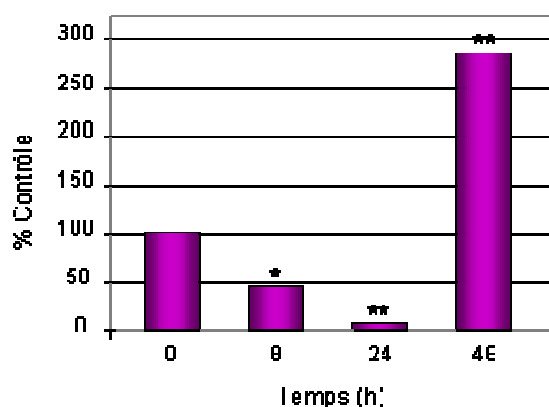


Figure 36 : Dosage du niveau de testostérone plasmatique à 8-h, 24 h et 48 h, après une seule administration de FM.

Les résultats sont présentés en pourcentage par rapport au contrôle. (*: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.01$)

Les concentrations de testostérone plasmatique diminuent à 8 h et 24 h (respectivement de - 64 %, $p \leq 0.05$ et - 92 %, $p \leq 0.01$), puis augmentent à 48 h (+ 185%, $p \leq 0.01$). Aucun effet n'est observé aux temps 1 h et 2 h.

Afin d'interpréter ce profil dynamique et atypique, nous nous sommes aidés des données de la pharmacocinétique. Il semble qu'à 8 h et 24 h, le 2-hydroxyflutamide, présent à de fortes concentrations dans le testicule, se comporterait comme une molécule agoniste sur les ARs. Un rétrocontrôle négatif serait envoyé à l'hypophyse, induisant une diminution de synthèse de testostérone par le testicule. Cette hypothèse est appuyée par les travaux de l'équipe d'E. M. Wilson qui a montré, par des expériences de liaison *in vitro*, qu'à des concentrations élevées, le 2-hydroxyflutamide pouvait exercer un effet agoniste sur le AR (Wong *et al.* 1995; Kemppainen and Wilson 1996). A 48 h, la concentration en 2-hydroxyflutamide redevenant plus faible, ce dernier semble retrouver ses propriétés d'antiandrogène. Il se fixe aux ARs, empêchant le système de percevoir les concentrations en testostérone circulantes et induisant une augmentation de la sécrétion en testostérone.

Aucune modification concernant le niveau de LH n'a pu être mesurée à 1 h, 2 h, 8 h, 24 h et 48 h, après l'administration unique de FM. Il est reconnu que le dosage de la LH, qui est une hormone sécrétée de façon pulsatile, est difficile. Les limites de ce dosage sont principalement dues à la nécessité d'effectuer des prélèvements sanguins fréquemment, idéalement plusieurs fois par heure, ainsi qu'au manque de sensibilité des kits de dosages disponibles (Pierroz *et al.* 1999). Dans cette étude, nous avons effectué nos dosages de LH plasmatiques à des temps de mesures relativement espacés, ce qui peut expliquer le fait que nous n'avons pas été capables de détecter cette hormone. Par ailleurs, nous ne pouvons pas exclure que la non-détection de la LH soit due à un problème technique lié au dosage radio-immunologique.

L'analyse histologique des coupes de testicules n'a montré aucune différence entre les animaux contrôles et traités, 8 h, 24 h et 48 h après l'administration du FM. La [figure 37](#) représente une coupe de testicule d'un animal contrôle et d'un animal traité, 48 h après l'administration du FM.

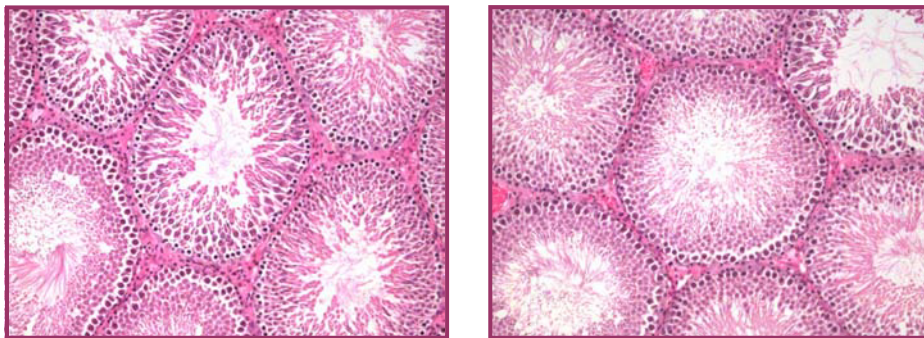


Figure 37 : Analyse histologique du testicule de rat contrôle et traité au FM, 48 h après une seule administration de FM.
Coupes représentatives d'un testicule contrôle (gauche) et traité (droite) coloré à l'éosine-hématoxyline (x 100).

2.2 Résultats protéomiques

Nous avons réalisé une analyse protéomique à partir des testicules de rats contrôles et traités, aux temps 24 h et 48 h après l'administration unique de 150 mg/kg de FM. Cette analyse a été effectuée à partir d'échantillons poolés par groupe. Au préalable, afin de s'assurer de l'homogénéité en terme de qualité et de quantité de tous les échantillons de chaque groupe utilisés pour générer les pools, une analyse du profil électrophorétique des échantillons protéiques testiculaires a été effectuée par SDS-PAGE classique. Après ce contrôle qualité, les échantillons au sein d'un même groupe sont poolés et analysés par gels bidimensionnels.

La figure 38 représente les profils protéiques bidimensionnels des testicules de rats contrôles et traités, 24 h et 48 h après l'administraton de FM.

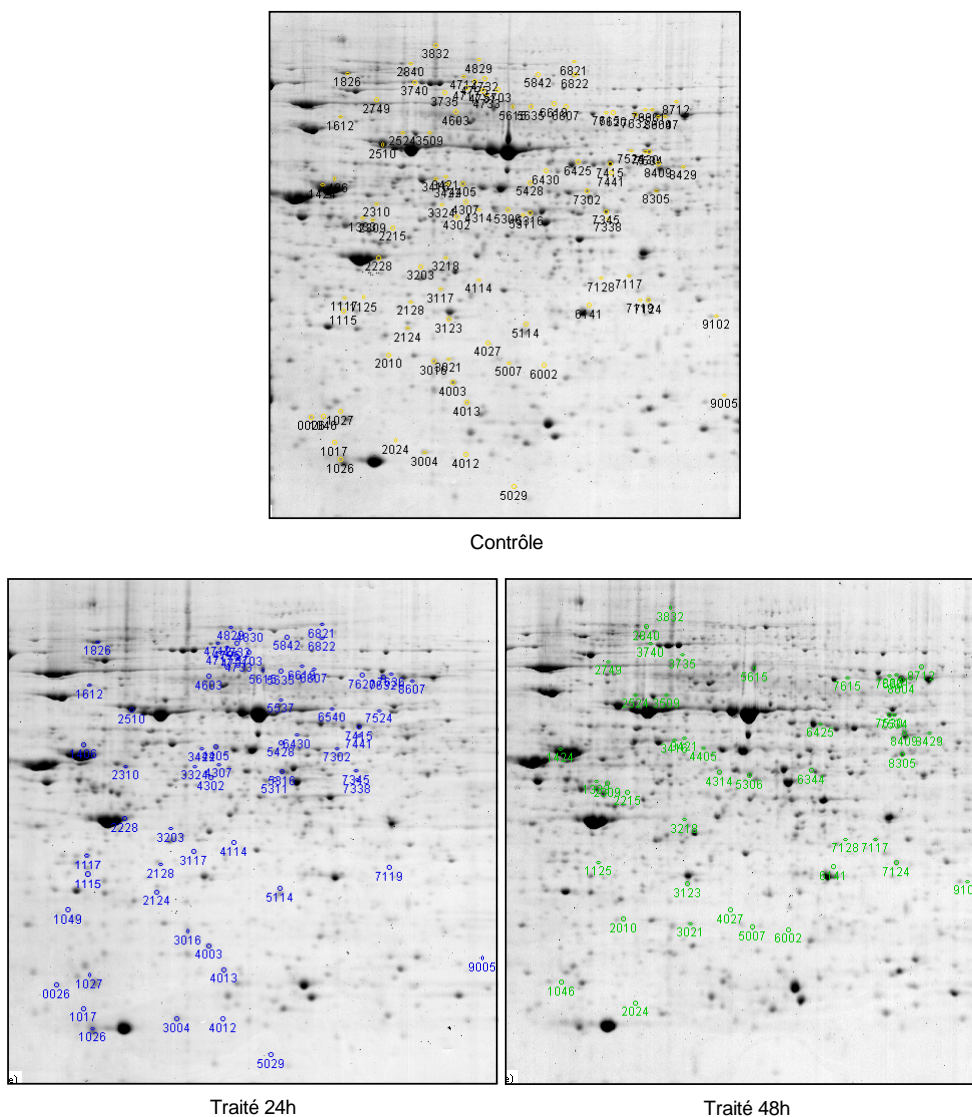


Figure 38 : Profils protéiques bidimensionnels représentatifs de testicules de rats contrôles et traités, 24 h et 48 h après l' administration unique de 150 mg/kg de FM. Après vérification de l'homogénéité, les échantillons au sein d'un groupe sont poolés puis analysés par gels bidimensionnels. Les spots statistiquement modulés (t-Test, $p \leq 0.05$) à chaque temps, sont localisés sur les gels par leurs numéros SSP.

Cette analyse par gels bidimensionnels effectuée sur une gamme de pH 5-8, nous a permis de mettre en évidence environ 1200 spots différents. Ce nombre est légèrement inférieur au nombre de spots révélés dans l'étude précédente du fait d'une petite différence en terme de front de migration entre ces 2 études. Nous avons constaté la modulation statistiquement significative (t-Test, $p \leq 0.05$) de 65 et 44 protéines, respectivement à 24 h et 48 h après une seule administration de FM. Ces protéines sont localisées sur les différents gels de la figure 38 et sont listées en annexe (Table c, p 47).

Nous constatons que le nombre de protéines modulées diminue en fonction du temps et que ces protéines sont très majoritairement (75 %) sur-accumulées à 48 h (Figure 39). De plus, trois protéines montrent un profil d'accumulations similaire aux temps 24 h et 48 h, après l'administration unique de FM. Ainsi, 62 et 41 apparaissent être spécifiquement modulées à 24 h et 48 h, respectivement, après une seule administration de 150 mg/kg de FM.

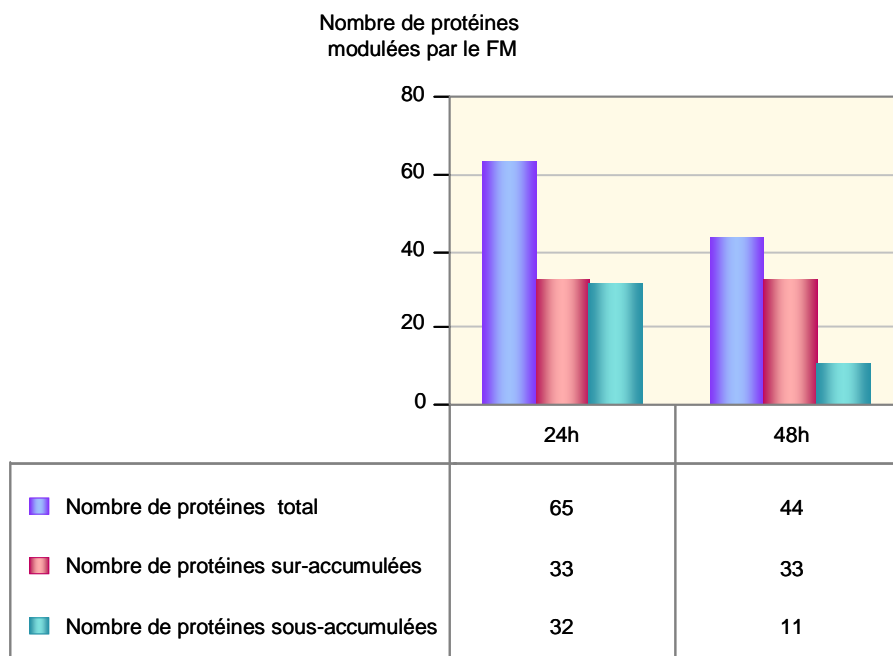


Figure 39 : Représentation du nombre total de protéines modulées à 24 h et 48 h, après une seule administration de 150 mg/kg de FM, ainsi que du nombre de protéines sur- et sous- accumulées à chaque temps.
(t-Test, $p \leq 0.05$)

En analysant le profil d'accumulation de ces protéines statistiquement modulées à au moins un temps après l'administration unique du FM, 60% d'entre elles ont une tendance à voir leur niveau d'accumulation augmenter en fonction du temps alors que 38 %, dont les 3 protéines communément modulées à 24 h et 48 h, décrivent plutôt une diminution de leur niveau d'accumulation.

Par ailleurs, nous avons comparé la liste de protéines significativement modulées à 24 h et 48 h après une exposition unique au FM avec celle correspondant aux protéines significativement modulées après une exposition répétée à la même dose de FM (150 mg/kg) pendant 28 jours. Seules 12 protéines sont retrouvées affectées à la fois après une exposition unique et répétée de 28 jours au FM.

Parmi l'ensemble des protéines affectées de façon statistiquement significative, 31 et 16 protéines ont pu être identifiées par spectrométrie de masse, respectivement aux temps 24 h et 48 h. La table III liste l'ensemble de ces protéines identifiées.

Condition 24 h

SSP	Nom Protéine	Nom Gène	N° d'accension
26	Hematological and neurological expressed sequence 1	Hn1	50927765
1027	Pred: similar to apolipoprotein A-I binding protein (Prot Clivée, Ext C-term)	Apoa1bp	62643738
1049	Apolipoprotein E [precursor]	ApoE	P02650
1115	Haptoglobin prec	Hp	P06866
1406	Glucokinase activity, related sequence 2	Gk-rs2	51259527
1612	Dynein intermediate chain 2, cytosolic	Dync1i2	Q62871
2124	Guanine nucleotide-binding protein, beta-2 subunit	Gnb2	41351301
2310	Predicted: similar to glycerol kinase-like 1	Gk-rs1	34879586
2510	Heat shock-related 70 kDa protein 2	Hspa2	P14659
3004	predicted: sim to membrane-associated ring finger (C3HC4) 6 (Prot clivée, Ext C-term)	RGD1565757	109464568
3016	F-actin capping protein beta subunit	Capzb	54400732
3117	isocitrate dehydrogenase 3 (NAD+) subunit alpha	ldh3a	16758446
3422	Protein disulfide isomerase A3 [precursor]	Pdia3	P11598
4003	Peroxiredoxin 4	Prdx4	37590233
4013	Eukaryotic translation initiation factor 4E	Eif4e	16758870
4302	Predicted: similar to selenophosphate synthetase 2	Sephs2	109459435
4307	Dihydrolipoamide S-succinyltransferase (E2 component of 2-oxo-glutarate complex)	Dlst	55742725
4405	Protein disulfide isomerase A3 [precursor]	Pdia3	P11598
4712	Predicted: similar to alpha glucosidase II, alpha subunit	Ganab	62641851
4717	10-Formyltetrahydrofolate Dehydrogenase, chain A, crystal structure of the N terminal Hydrolase Domain	Aldh1l1	42543697
5311	Enolase 1, alpha	Eno1	6978809
5316	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor]	Aldh2	P11884
5428	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	G6pdx	204197
5615	Protein disulfide isomerase-like protein of the testis	Pdilt	62078533
6619	Loss of heterozygosity 11 chromosomal region 2 gene A homolog	Loh11cr2a	38454250
6821	Pyruvate carboxylase, mitochondrial [precursor] (Pyruvic carboxylase)	Pc	1709948
6822	Similar to oxoglutarate dehydrogenase (lipoamide)	LOC360975	62945278
7302	Carboxylesterase 3 [precursor]	Ces3	P16303
7345	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor]	Aldh2	P11884
7415	Stress-induced-phosphoprotein 1	Stip1	2511703
7632	Serotransferrin [precursor]	Tf	P12346

Condition 48 h

SSP	Nom Protéine	Nom Gène	N° d'accension
1125	Cytokine induced apoptosis inhibitor 1	Ciapin1	53733543
2309	Protein kinase, cAMP dependent regulatory, type I, alpha	Prkar1a	6981396
3021	Proteasome (Prosome, macropain) 28 subunit, 3	Psme3	58476513
3123	Phosphoprotein phosphatase V	"PpV"	1071868
4314	aldehyde dehydrogenase family 9, subfamily A1	Aldh9a1	75905479
4405	Protein disulfide isomerase A3 [precursor]	Pdia3	P11598
5306	aldehyde dehydrogenase family 9, subfamily A1	Aldh9a1	75905479
5615	Protein disulfide isomerase-like protein of the testis	Pdilt	62078533
6344	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor]	Aldh2	P11884
6425	Chaperonin subunit 3 (gamma)	Cct3	38969850
7117	Chain, coordinates of rat Map Kinase Erk2 with an Arginine mutation at position 52	Mapk1	1942172
7124	Predicted: similar to 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 7 (Prot Clivée: Ext C-term)	Psmd7	109508092
7530	carnitine palmitoyltransferase 2	Cpt2	6978705
7534	carnitine palmitoyltransferase 2	Cpt2	6978705
8305	Dihydrolipoamide dehydrogenase	Dld	38303871
8409	5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/IMP cyclohydrolase	Atic	47939008

Table III : Protéines statistiquement modulées 24 h et 48 h après une administration unique de 150 mg/kg de FM, et identifiées par spectrométrie de masse.

31 et 16 protéines ont pu être identifiées respectivement aux temps 24 h et 48 h. Les numéros des spots (SSP) se réfèrent aux spots localisés sur les profils bidimensionnels (Figure 35)

Une analyse fonctionnelle nous a permis de classer les différentes protéines identifiées et modulées par le FM aux différents temps de sacrifice, en 9 grandes fonctions biologiques (Figure 40).

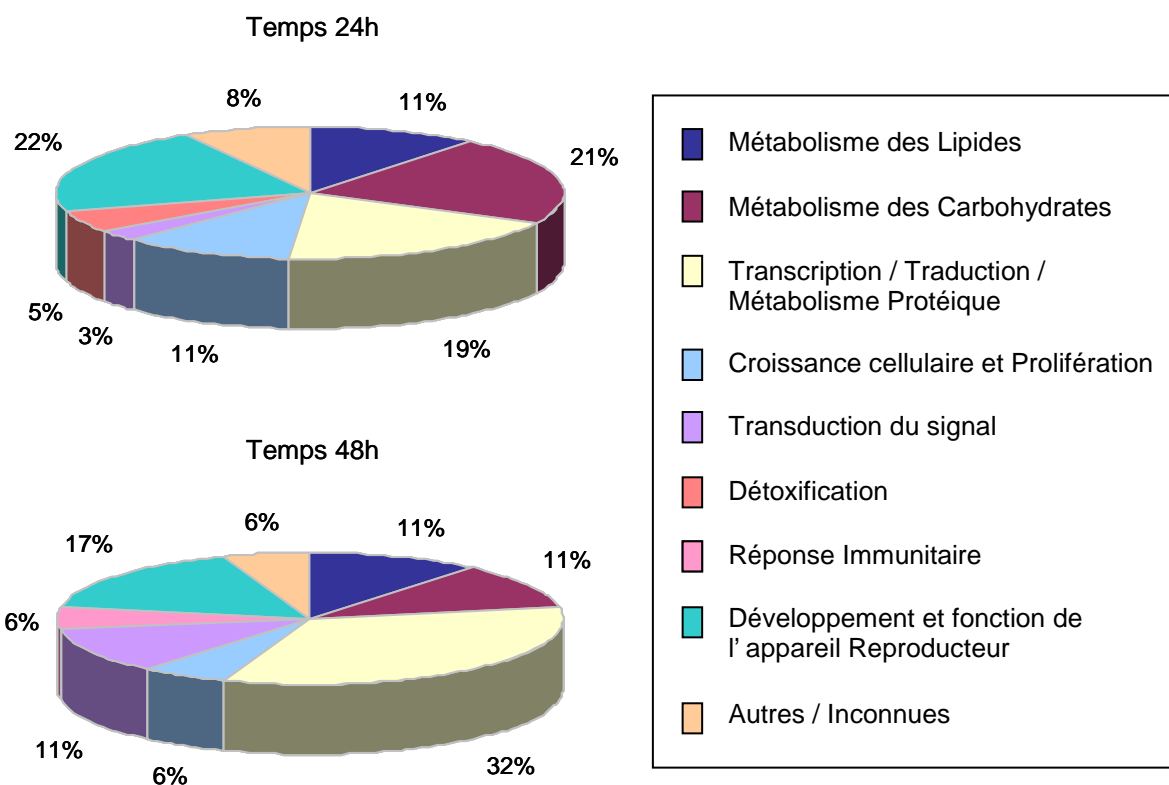


Figure 40: Voies métaboliques affectées par 150 mg/kg de FM, 24 h et 48 h après l'administration unique de FM.

Parmi les voies métaboliques affectées par le FM, nous avons focalisé notre attention sur les protéines participant aux processus de transcription, traduction et métabolisme protéiques, et au développement et fonctionnement de l'appareil reproducteur. En effet ces fonctions biologiques semblent être les principales fonctions modulées suite à une exposition unique au FM.

La quasi-totalité des protéines impliquées dans les processus de transcription, traduction et métabolisme protéiques, sont des chaperonnes, protéines permettant le repliement correct et le transport de protéines nouvellement synthétisées, ainsi que leur association afin de former des complexes protéiques matures. Nous observons la modulation des protéines Pdia3, Pdilt, Cct3, Hspa2 et Stip1, 24 h et/ou 48 h après une administration unique de FM.

Les protéines disulfide isomérases (Pdi) sont des enzymes impliquées dans la formation de ponts disulfures, permettant de stabiliser les protéines ainsi que les complexes protéiques. Les protéines Pdia3 et Pdilt qui appartiennent à cette famille, sont 2 des 3 protéines modulées à la fois à 24 h et 48 h, après l'administration de FM. Les chaperonnes Cct3, Hspa2 et la co-chaperonne Stip1 facilitent, quant à elles, le repliement correct des protéines. Certaines de ces protéines, aussi appelées protéines de stress ou de choc thermique (HSPs), sont capables de prévenir d'éventuels défauts de repliements ou d'agrégations des protéines pouvant être générés lors de conditions de stress (Burel *et al.* 1992). En effet, des phénomènes d'agrégation protéique, observés dans les cellules en condition normale, peuvent également être induits en condition de stress (Burel *et al.* 1992). La modulation du niveau d'accumulation de ces protéines observée dans notre étude, suppose que ces chaperonnes participent à la désagrégation des complexes protéiques établis suite au stress dû à l'exposition au FM, ainsi qu'à la renaturation correcte de ces protéines.

De plus, il a été montré qu'une exposition à divers xénobiotiques pouvait induire, au niveau de l'appareil reproducteur, un mécanisme de protection impliquant ces HSPs (Dix and Hong 1998). La Pdilt, détectée dans le testicule, semble jouer un rôle de chaperonne spécifique au niveau des cellules testiculaires (van Lith *et al.* 2005). La protéine Hspa2 apparaît être indispensable au bon déroulement de la spermatogenèse de par son action spécifique de chaperonnage de la Cdc2 kinase et son association avec le complexe synaptonémal, nécessaire à la progression de la méiose des cellules germinales (Eddy 1999). Mizrak S.C. et collaborateurs ont également observé la sur-accumulation de la protéine Stip1, suite à une exposition au mono-2-ethylhexyl phthalate (MEHP). Ils ont ainsi montré le rôle important de cette co-chaperonne au niveau de la protection des cellules germinales face à des conditions de stress (Mizrak *et al.* 2006).

Parmi ces protéines modulées, appartenant aux processus de transcription, traduction et métabolisme protéiques, un certain nombre semble donc participer aux fonctions testiculaires.

Nous avons également observé la modulation d'autres protéines impliquées dans le développement et les fonctions de l'appareil reproducteur. D'après la [figure 40](#), 22 % et 17 % des protéines modulées respectivement à 24 h et 48 h participent à cette fonction biologique.

L'haptoglobine (Hp), sécrétée par les cellules de Sertoli, est connue pour être impliquée, au niveau du testicule, dans le maintien d'une certaine concentration de fer, molécule cruciale à la spermatogenèse (O'Bryan *et al.* 1997). La sous-accumulation à 24 h

des protéines Hspa2 et Hp, nécessaires au bon déroulement de la spermatogenèse, est probablement liée aux faibles concentrations de testostérone mesurées à ce temps.

La serotransferrine (Tf), sur-accumulée à 24 h, est sécrétée par les cellules de Sertoli (Skinner and Griswold 1980) et participe également au transport du fer au niveau du testicule. Récemment, Lecureuil C. et collaborateurs ont montré qu'une sur-accumulation de cette protéine chez la souris pouvait avoir un effet néfaste sur les fonctions testiculaires (Lecureuil *et al.* 2007).

De plus, nous avons observé la modulation de la protéine Dnci2 qui est une des sous unités de la dynéine, complexe enzymatique cytoplasmique, permettant le déplacement de nombreux organelles le long des microtubules. Au niveau du testicule, et plus spécifiquement dans les cellules de Sertoli, ce système de transport dépendant des microtubules, fait appel à une famille de protéines motrices dont fait partie la dynéine, et permet, entre autre, le transport des spermatides lors du processus de spermiogenèse et la translocation apicale des spermatides allongées avant la spermiation. Ce transport implique l'établissement de jonctions adhérentes spécialisées, entre les cellules germinales en développement et les cellules de Sertoli, appelées spécialisation ectoplasmique (ES) apicale (Russell 1977; Vogl *et al.* 2000). Ce processus de transport, faisant intervenir la dynéine, se retrouve également au niveau des cellules germinales. En effet, il a été montré que dans ces cellules, la dynéine associée à la surface du noyau des spermatides ainsi qu'à des microtubules, participe à la transformation morphologique du noyau des spermatides (Yoshida *et al.* 1994). Ainsi, la dynéine semble être une protéine importante dans le bon déroulement de la spermiogenèse, du fait de son implication dans les processus de transformation morphologique et de translocation des spermatides, étape primordiale avant le relargage des spermatozoïdes matures dans la lumière du tube séminifère.

Une fois que les spermatozoïdes se retrouvent au niveau de l'appareil reproducteur femelle, un processus appelé capacitation se met en place. Ce phénomène est caractérisé par 3 événements majeurs qui sont l'hyperactivation des spermatozoïdes, la formation de l'acrosome et des phénomènes de phosphorylation, rendant les spermatozoïdes aptes à la fécondation. Mitra K. et collaborateurs ont récemment mis en évidence le rôle important de la dihydrolipoamide déhydrogénase (Dld) dans ces phénomènes d'hyperactivation et de formation de l'acrosome des spermatozoïdes (Mitra *et al.* 2005), protéine que nous retrouvons modulée 48 h après une administration unique de FM.

Bien qu'aucune lésion histologique n'ait pu être mise en évidence chez les animaux exposés au FM, la modulation du niveau d'accumulation de ces protéines suppose que cet antiandrogène est probablement capable de perturber, de façon directe ou indirecte, certaines étapes nécessaires à l'obtention de spermatozoïdes matures et fertiles.

En résumé, cette analyse protéomique nous a permis de mettre en évidence la modulation de nombreuses protéines chaperonnes. Ces protéines semblent prévenir d'éventuels défauts de repliements ou d'agrégation des protéines induits en condition de stress, ici suite à une exposition au FM. De plus nous avons identifié plusieurs protéines participant aux fonctions testiculaires et plus spécifiquement au bon déroulement de la spermatogenèse.

Afin de conforter nos observations et hypothèses, une analyse transcriptomique a été effectuée sur les mêmes échantillons testiculaires.

2.3 Résultats transcriptomiques

Les niveaux d'accumulation des transcrits testiculaires des rats traités par 150 mg/kg de FM, 8 h, 24 h et 48 h après le traitement ont été comparés à ceux d'animaux contrôles. Ces comparaisons ont été réalisées à l'aide de puces oligonucléotidiques couvrant le génome total du rat, en « dye swap ». Un total de 6 lames a été nécessaire à cette analyse.

La figure 41 représente les diagrammes de dispersion des données d'accumulation des transcrits des testicules de rats traités par rapport à ceux des rats contrôles. Chaque diagramme représente le \log_{10} du ratio de l'expression des gènes chez les traités par rapport au contrôle en fonction du niveau d'expression des gènes.

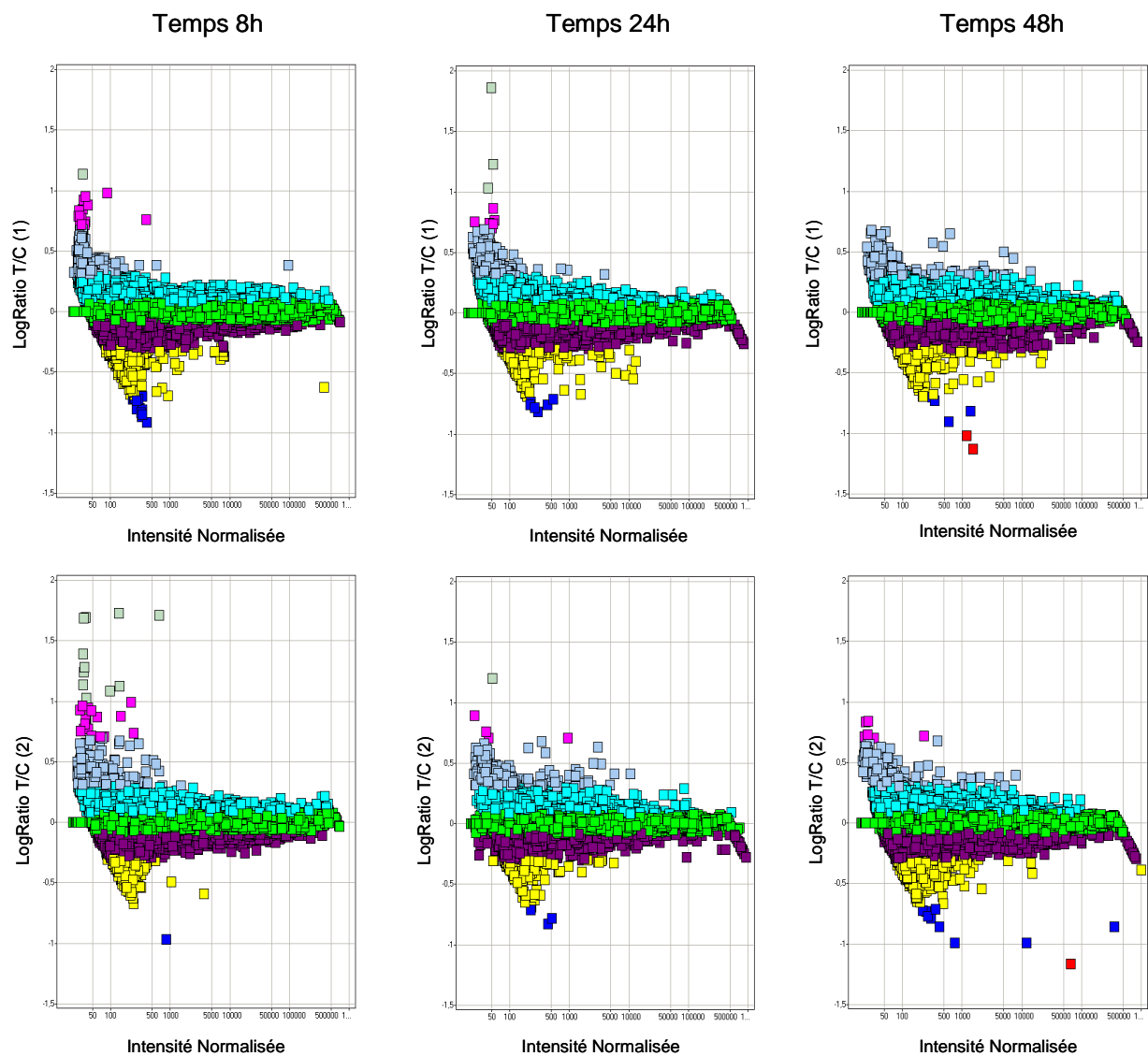
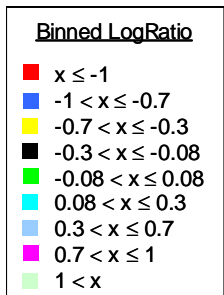


Figure 41: Diagramme de dispersion (scatters-plots) des résultats de puce aux temps 8 h, 24 h et 48 h après une administration unique de 150 mg/kg de FM.

Chaque scatter plot représente le \log_{10} du ratio de l'expression des gènes testiculaires des animaux traités par rapport aux animaux contrôles en fonction du niveau d'expression des gènes chez les animaux contrôles. Chaque expérience est composée de 2 analyses réalisées en «dye swap»: les sondes (ARNc) sont produites par transcription in vitro, avec l'incorporation du CTP-Cy3 dans les échantillons contrôles et du CTP-Cy5 dans les échantillons traités (scatter plot supérieur); l'incorporation du CTP-Cy5 dans les échantillons contrôles et du CTP-Cy3 dans les échantillons traités (scatter plot inférieur).



D'après nos critères de sélection, nous avons pu mettre en évidence 176, 358 et 571 transcrits dont le niveau d'accumulation est modulé, respectivement 8 h, 24 h et 48 h après l'administration unique de 150 mg/kg de FM. L'ensemble de ces transcrits modulés par le FM est listé en annexe (Table d, p 48). Nous constatons que le nombre de transcrits modulés augmente en fonction du temps d'exposition au FM (Figure 42). Il est intéressant de noter que ce profil d'accumulation des transcrits est inverse à celui du niveau d'hydroxyflutamide plasmatique et testiculaire, ceci reflétant probablement le temps de réponse de l'organe à l'exposition au FM. De plus, aux temps 8 h et 48 h la proportion de transcrits sur-et

sous-accumulés est globalement la même, alors qu' à 24 h la majorité des transcrits (72.3 %) est sous-accumulée.

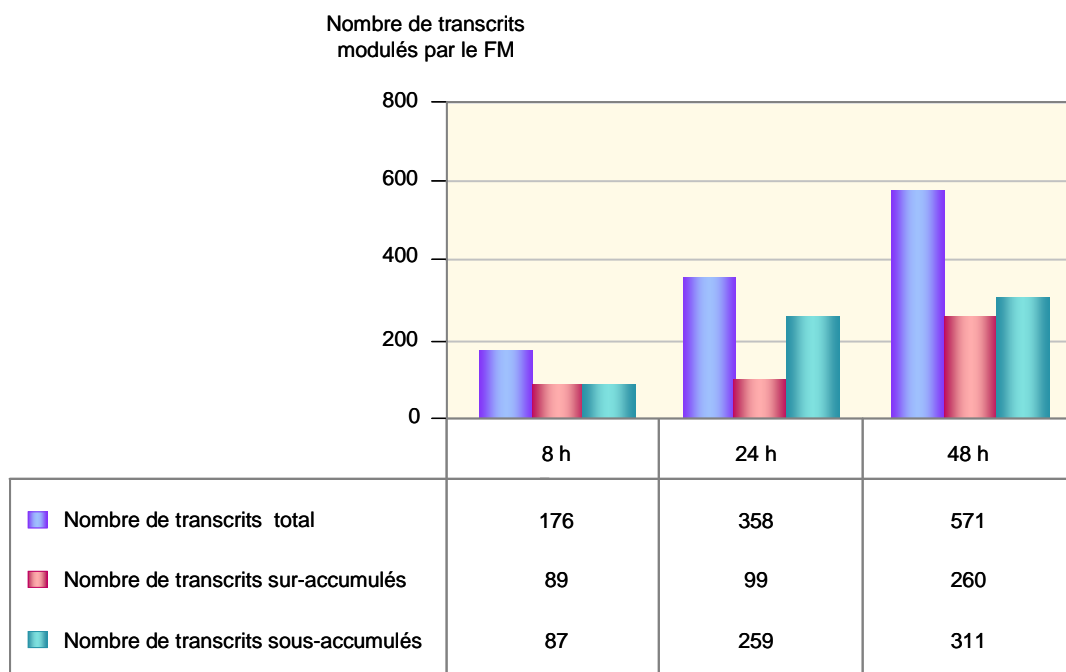


Figure 42 : Représentation du nombre total de transcrits modulés, 8 h, 24 h et 48 h après une seule administration de FM à 150 mg/kg, ainsi que du nombre de transcrits sur- et sous- accumulés à chaque temps.

Un total de 934 transcrits apparaît être affecté suite à l' administration unique de FM, ce qui représente 2.3 % du nombre total de gènes représentés sur la biopuce. Nous constatons que 161 de ces transcrits, soit 17.2 %, sont retrouvés modulés à au moins deux temps de sacrifice différents, avec 10 transcrits modulés aux temps 8 h et 24 h, 22 transcrits modulés aux temps 8 h et 48 h, 119 transcrits modulés aux temps 24 h et 48 h, et 10 transcrits modulés aux 3 temps de sacrifice. Ainsi, 134, 219 et 420 transcrits apparaissent être spécifiquement modulés respectivement à 8 h, 24 h et 48 h après l' administration unique de 150 mg/kg de FM (Figure 43).

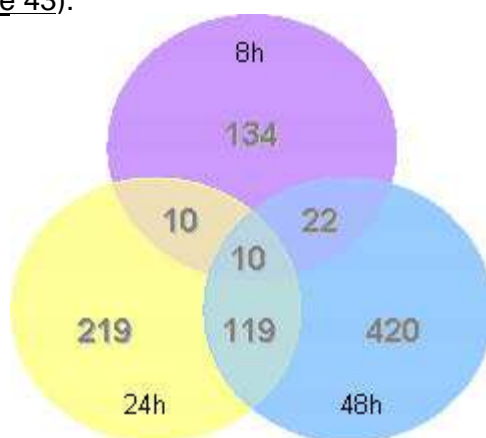


Figure 43 : Diagramme de Venn représentant le nombre de transcrits spécifiquement modulés, 8 h, 24 h et 48 h, après une seule administration de FM à 150 mg/kg, ainsi que le nombre de transcrits modulés à plusieurs temps de sacrifice.

Nous avons analysé les profils d'accumulation de ces transcrits significativement modulés en fonction du temps après l'administration unique de 150 mg/kg de FM. Pour une large majorité des transcrits ayant leurs niveaux d'accumulation modulés à au moins 2 temps de sacrifice, nous avons observé un profil d'accumulation dynamique, avec une augmentation puis une diminution, ou inversement, entre les temps 8 h et 24 h, et entre 24 h et 48 h après l'administration unique du FM. Ainsi, 70 % des transcrits significativement modulés à 8 h et 24 h, 60 % des transcrits significativement modulés à 8 h et 48 h, 40 % des transcrits significativement modulés à 24 h et 48 h, et 50 % des transcrits significativement modulés aux 3 temps, décrivent ce type de profil. Nous supposons que ces profils dynamiques reflètent la double activité du FM qui agirait comme un androgène aux temps précoces puis comme un antiandrogène après 24 h.

De la même façon que dans l'étude sub-aigüe, nous avons ensuite regardé le profil d'expression de gènes androgéno-dépendants.

Pem, exprimé dans les cellules de Sertoli (Lindsey and Wilkinson 1996; Sutton *et al.* 1998), est retrouvé sous-accumulé à 24 h et nous observons une augmentation du niveau d'accumulation de ce transcrit à 48 h. Cyp17a1, exprimé dans les cellules de Leydig (Burgos-Trinidad *et al.* 1997), est sous-accumulé à 24 h et sur-accumulé à 48 h. Le transcrit Hsd3b1 montre une sur-accumulation à 8 h et 48 h, avec une diminution de son niveau d'accumulation au temps intermédiaire 24 h. Nous observons également la sous-accumulation de l'enzyme de détoxification GST α , exprimée dans les cellules de Sertoli (Benbrahim-Tallaa *et al.* 2002), 24 h après l'administration du FM. Les profils d'accumulation de ces transcrits confirment le rôle supposé agoniste du FM à 8 h et 24 h induisant une diminution de synthèse de la testostérone et du niveau d'accumulation des transcrits androgéno-dépendants, suivie par un effet antagoniste à 48 h stimulant la synthèse de la testostérone et des transcrits androgéno-dépendants.

L'analyse des listes des transcrits modulés à chaque temps de sacrifice, par une classification selon la « Gene Ontology », n'a révélé qu'une modulation des voies de biosynthèse des acides gras et des stéroïdes à 24 h et 48 h. Par contre, en analysant les listes de transcrits modulés de façon spécifique à chaque temps, nous observons que les processus de régulation de l'apoptose, de la différenciation des lymphocytes B et du cycle circadien semblent être modulés de façon spécifique, respectivement à 8 h, 24 h et 48 h, après l'administration du FM.

Les listes de transcrits modulés par le FM, sont ensuite analysées par le programme Ingenuity Pathway Analysis (IPA). Nous avons tout d'abord analysé les réseaux d'interaction des transcrits touchés par le FM, puis les principales fonctions biologiques affectées. Les listes globales des gènes présents sur les puces analysées correspondant aux 3 temps de sacrifice, incluant les transcrits différentiellement accumulés et répondant aux critères de sélection (« focus gene »), sont importées dans le programme IPA. Les résultats obtenus sont présentés dans la [figure 44](#).

A. 8 h :

ID	Genes	Score	Focus Genes	Top Functions
1	↑ACAD5* , ↑AZU1* , ↑BIK* , ↑CCRN4L* , ↓CD244* , ↓CD1ND2A* , ↓CLEC4E* , ↓DUSP11* , ↓ECGF1* , ↓GADD45G* , ↓GPRC5A* , ↑GSP11* , ↑HG0* , ↓H2-Q1* , ↑HLA-DQB2* , ↓IFNG* , ↑IL15* , ↑IL18* , ↓IL13RB2* , ↑KLRD1* , ↑LAT* , ↑MELK* , ↓NTN1* , ↑OGN* , ↑PLEL1* , ↑PTP4A1* , RAE1B* , ↑SCUBE1* , ↑SFR57* , ↑SLC28A2* , ↓TM45F1* , ↑TNF* , ↓TRAFD1* , ↓XCL1* , ↓ZNF655*	22	13	Cell Death, Cell-To-Cell Signaling and Interaction, Hematological System Development and Function
2	↓AR* , ↓CACNA1S* , CC19 (includes EG:337988) , ↑CD3001F* , ↑EDD1* , ↓FOS* , ↓HAS1* , ↑HMGB1* , ↑HP* , ↓HPGD* , ↑HSPH1* , ↑IGF1* , IL8* , ↑IL18* , ↓IRG1* , ↓ITPKB* , ↑MAP3B* , ↓P2RX7* , ↑P2RY6* , ↑PCDH7* , ↓PCDHGC3* , ↑PGR* , ↓PIGR* , ↑PNRC1* , ↑RAB9A* , ↑RABEPK* , ↓SERPINB2* , ↑SIRPA* , ↓SLC11A2* , ↓SLC20A1* , ↓SLFN2* , ↓SNCG* , ↑TERT* , ↓TNFSF11* , ↑TSC22D3*	20	12	Connective Tissue Development and Function, Skeletal and Muscular System Development and Function, Tissue Development
3	↓AI1* , ↑ANKA8* , ↓APOBEC1* , ↓BAP1* , ↑BRCA1* , ↓CHD3* , ↓COL14A1* , ↓COL4A1* , ↑CTGF* , CTSF (includes EG:8722) , ↑DCTN2* , ↓DDIT4* , ↓DKFZP564K142* , ↑ESR1* , ↑FXD3* , ↑GCN5L2* , ↑HDAC1 (includes EG:3065)* , ↓JNG1* , ↓LHK1* , ↑LMO4* , ↑LPIN1* , ↑MATN4* , ↑MYCN* , ↑PRIM2A* , ↑PTRPR* , ↑RAB14* , ↑RECQL4* , ↑RPL11* , ↓SMARCB1* , ↑TAC1* , ↑TACC2* , ↑TOP2B* , ↑TP53* , ↑TRIM16* , ↑XPNPEP1*	16	10	Cellular Assembly and Organization, DNA Replication, Recombination, and Repair, Cancer

B. 24 h :

ID	Genes	Score	Focus Genes	Top Functions
1	↑ANGPT1* , ↑ARAF* , ↓CA2* , ↓CAMK2D* , ↑CASP9* , ↑CBFB* , ↓CCL17* , ↓CHGA* , ↓CLM* , ↑CTGF* , ↑CXCL2* , ↓CXCL12* , ↑CYP17A1* , ↓DAD1* , ↑FABP4* , ↑GAL* , ↑GDF9* , ↑GHR* , ↑HMGB1* , ↑IFNGR2* , ↑IGF1* , ↑IGFALS* , ↑M54A1* , ↑MYH6* , ↑MYH7* , ↑NFPE2* , ↑NFC* , ↑PAPPA* , ↑PDIA3* , ↑PHLDA1* , ↓SCYE1* , ↑SPP1* , ↑STAT5A* , ↑TXN* , ↑VCAM1*	23	17	Cell Death, Immunological Disease, Immune Response
2	↑AGTR1* , ↑AKR1B10* , ↑ALDH1A7* , ↑ANKA5* , ↑APOB* , ↓CFD* , ↑CIA51* , DEFB4 (includes EG:1673) , ↑FABP4* , ↑GATA3* , ↑HP* , ↑HRSP12* , ↑IL10RA* , ↑IL23A* , ↑IRF7* , ↑ISG15* , ↑LCAT* , ↑LIPE* , ↑MEFV* , ↑NR0B1* , ↑PLSCR1* , ↑PRSS523* , ↑PTGES* , ↑PTHLH* , ↑RGS2* , ↓S100A8* , ↑SCARB1* , ↑SERPINA12* , ↑SFTPA1* , ↑SLC1A3* , ↑STAR* , ↑TIRAP* , ↑TLR2* , ↑TLR6* , ↑TNF*	21	16	Lipid Metabolism, Molecular Transport, Small Molecule Biochemistry
3	↓ACSL1* , ↓ADRB3* , ↑BCAT2* , ↓CDK2* , ↑CES1 (includes EG:1066) , ↑CRYM* , ↑CYP2D9* , ↓DECR1* , ↓DPT* , ↑ELF1* , ↑ERBB2* , ↓EREG* , ↓GHI* , ↑GHR* , ↑HADHB* , ↑HRASL53* , ↑LGALS1* , ↑MAP1B* , ↓MARC5* , ↑MUC4* , ↑PEM* , ↑PFN2* , ↑POLA* , ↑PRIM1* , ↑PRLR* , ↑SLPIA* , ↓SPI* , ↓SPIN2A* , ↑TAGLN* , ↑TSC22D1* , ↑UBC* , ↑UGT1A8 (includes EG:54576)* , ↑YY1* , ↓ZBTB7A* , ↓ZNF161*	19	15	Cancer, Cellular Growth and Proliferation, Endocrine System Disorders
4	↓ACLY* , ↑AVP* , ↑CASP3* , ↓CLIC6* , ↑CNN3* , ↑COL5A1* , ↓CST5* , ↓CTPS* , ↑CTSH* , ↑CYP17A1* , ↑FABP3* , ↓FGF6* , ↑FGF19 (includes EG:9965) , ↑GAS2* , ↓GDF1* , ↑HADH2* , ↑IFI30* , ↑LGALS3* , ↑MGP* , ↑MGST1* , ↑NEUS* , ↑NGFRAP1* , ↑OAT* , ↓OLIG1* , ↑PAH* , ↑PBEF1* , ↑PDLIM4* , ↑PNOG* , ↑PRL* , ↑SFRP2* , ↑SHH* , ↑SOD1* , ↑SRM* , ↑SVS5* , ↑TGFB1*	19	15	Cellular Growth and Proliferation, Endocrine System Development and Function, Cell Death
5	↑ABC11* , ↓ABCD3* , ↑ACO1* , ↑ADH1C (includes EG:126) , ↑ASS* , ↑CALB1* , ↓CCL17* , ↓CD38* , ↑CHRNA1* , ↓CHRNA4* , ↑CROT* , ↓CTS6* , ↑CYP11A1* , ↑CYP24A1* , ↑CYP3A5* , ↑CYP4A22* , ↓DECR1* , ↑ECHS1* , ↑FAAH* , ↑FABP3* , ↑FBP2* , ↓FDX1* , ↑HMGC52* , ↑HSD17B3* , ↑IFNG* , ↓IRGM* , ↑LEP* , ↑NPY1R* , ↑PCSK1* , ↑PCSK2* , ↑RXRA* , ↓SLC37A4* , ↑SSBP1* , ↑TRH* , ↑YWHAZ*	18	14	Metabolic Disease, Drug Metabolism, Lipid Metabolism
6	↑ADARB1* , ↑ALCAM* , ↑ALDH2* , ↑ARG1* , ↓BOP1* , ↑CD6* , ↑CRISP3 (includes EG:10321) , ↓E2F6* , ↑EGF* , ↓EMP1* , ↑FSTL1* , ↓GADD45G* , ↓GBP2* , ↑HNRPH1* , ↑HRAS* , ↓IL4* , ↓INSL3* , ↑MGST3* , ↑HRPL12* , ↑MYC* , ↑P2RX7* , ↑PDLIM1* , ↑PF1FB1* , ↑PLS3* , ↑PRDX3* , ↑P5MB8* , ↓P5MB9* , ↑REPS* , ↓RRL30* , ↓RPLP1* , ↑RPS27* , ↑SNRPN* , ↓SRM* , ↓SWAP70* , ↑TSP0*	18	14	Cellular Growth and Proliferation, Hematological System Development and Function, Immune and Lymphatic System Development and Function
7	↑ABC1* , ↑ALDOC* , ↑CCNT2* , ↓COL4A1* , ↑COMT* , ↑CREG1* , ↓DDIT4* , ↑EI24* , ↓FDXR* , ↑FRP3* , ↑GCHFR* , ↑GSTM5* , ↑HDAC2* , ↑HIF1A* , ↑HIST1H1C* , ↑HLA-DQA1* , ↑HOP* , ↑KHK* , ↑KNTC2* , ↑NAFF* , ↑MAPK10* , ↓MDM4* , ↑NNAT1* , ↑PDYN* , ↑PP1R13B* , ↑RBI* , ↓RBLCC1* , ↑RBBP6* , ↓RRM1* , ↑SCN2A2* , ↑TBL1X* , ↓TP53* , ↑TP73L* , ↑TTI* , ↑WDHD1*	16	13	Cancer, Cellular Growth and Proliferation, Renal and Urological Disease
8	↑4930486L24RIK* , ↑ACADVL* , ↓ALAS1* , ↓CCL17* , ↓CD44* , ↓CD86* , ↑CD40LG* , ↑CSTA* , ↑CTSH* , ↑CUGBP2* , ↓CYP11B1* , ↑DAPPI* , ↑FADS1* , ↑FGF4* , ↑GOSF* , ↓GOS2* , ↓GGP0* , ↑GSTA1* , ↑GSTA5* , ↑GSTP1 (includes EG:24426) , ↑HACL1* , HLA-B* , ↑HSD3B1* , ↑HYAL2* , ↑IL13* , ↑IL13RA1* , ↓INS1* , ↑NIPSNAP1* , ↑NIF3* , ↑PRDM1* , ↓PTRN* , ↓SAMS1* , ↑STXBP1* , ↑SWAP70* , ↑TNFAIP6*	16	13	Drug Metabolism, Small Molecule Biochemistry, Connective Tissue Disorders
9	↑ADK* , ↑CARD9* , ↑CLDN1* , ↓CLDN2* , ↓CTSW* , ↓CXCR6* , ↓DHRS4* , ↑DIO3* , ↑ERRF1* , ↑F2* , ↓FGF2* , ↑FMO3* , ↑GARS* , ↑GCNT1* , ↑GGCX* , ↑GJA7* , ↑GLUL* , ↑GREM1* , ↑GZMC* , ↑HCLS1* , ↓IL2* , ↑IL15* , ↑ILRB1C* , ↑MLLT3* , ↑PLEL1* , ↑PPP6C* , ↓PSCDBP* , ↑PTRRJ* , ↓RPL10* , ↓SLC9A2* , ↑SRC* , ↑TJP1* , ↑TJP3* , ↑TNFRSF12A* , ↑URP1*	10	9	Cell Cycle, Hair and Skin Development and Function, Cell-To-Cell Signaling and Interaction

Figure 44 : Réseaux de gènes affectés après une seule administration de FM à 150 mg/kg. Analyse des gènes modulés 8 h (A) et 24 h (B) après l'administration unique de FM. Un score de 5 équivaut à une p-value de 10⁻⁵. Les gènes en gras correspondent aux gènes répondant aux critères de sélection. Chaque réseau peut contenir un maximum de 35 gènes.

C. 48 h :

ID	Genes	Score	Focus Genes	Top Functions
1	↓ADA*, ↓CSORF13, ↓CA2*, ↓CCL17, ↓CD36, CIAA1, CIAA2, ↑COL10A1, ↓COL11A2, ↓COL1A1*, ↓COL1A2*, ↓COL3A1*, ↓COL5A3, ↓CXCL12*, ↓CYP17A1, ↓DDR1*, ↓HMGDB1*, ↓HSD11B1*, ↓HSD3B1*, ↓HSPD1*, ↓IGF1*, ↓LRPAP1*, ↓LYN*, ↓P4HA1, ↓PBK2, ↓PDGFA, ↓PDGFC, ↓PDGFRA*, ↓PF4, ↓PLAUR*, ↓SP7, ↓SPP1, ↓UCP1, ↓VCAM1, ↓VTN	31	23	Cellular Movement, Dermatological Diseases and Conditions, Cellular Growth and Proliferation
2	↑ABLIM1*, ↓ALDH18A1, ↓ALPL, ↑ATF6, ↓C3NN3*, ↓CSR1*, ↓CTPS, ↑CYB561, ↓DYRK1A, ↓G3BP1*, ↓HADH2*, ↓HEBP1, ↓ID11*, ↓IF130*, ↓IGFBP6, ↓IL6*, ↓MGP*, ↓MKD4, ↓PCT12*, ↓PDGFB, ↓FDLIM7*, ↓PDZ11P1*, ↓PLOD1*, ↓PTEN, ↑SCARB1*, ↓SFTPB*, ↓SFTPC*, ↓SLC20A1*, ↓SMURF2, ↓SPTBN1*, ↑TGFβ1*, ↓TGFβR3*, ↓TPM2*, ↑TRAM1, ↑TWHA3*	18	16	Cellular Movement, Respiratory System Development and Function, Cell-To-Cell Signaling and Interaction
3	↑ARG1, ↑BATF, ↑BBX*, ↓CSAR1, DUB3, ↓FPRL1 (includes EG:2358), ↑GBP2*, ↓HLA-DQA1*, ↓HLA-DQB2*, ↓HRSP12*, ↓JFT1L, ↓IL4*, ↓IL6, IL19, ↓INDO, ↑KNTC2, ↓LGALS1, ↓MMP10, ↓MS4A1, ↓MMU, ↓NHP1*, ↓OPRM1*, ↓PRDX1, ↓PROS1*, ↓PSMB8, ↓PSMB9, ↓PSME1, ↓PSME2, ↑PTGES, ↓SFRS5*, ↓SFB25, ↓STOM*, ↓SV2B*, ↓TIK*, ↓TXN*	17	15	Cell-To-Cell Signaling and Interaction, Immune Response, Immune and Lymphatic System Development and Function
4	↓BCAT2, ↓C1QA*, ↓CALB2, ↓CCNG1*, ↓CHEB12, ↓DKC1*, ↓EPI, ↓F3R, ↓GADD45G, ↓GSTM5, ↓HMMR*, ↓IL3, ↓IL24, ↓JAK3, ↓LAT52, ↓NUCKS1*, ↓PDYN, ↑PW111, ↑PLAUGL1*, ↓PPP1R15A (includes EG:23645), ↓PRSS52*, ↑RALY*, ↓RFL11, ↓SERPINE2, ↑TBX3, ↑TCEA3, ↑TEP1, TERC (includes EG:7012), ↓TERT*, ↑THRB*, ↓TNFSF9, ↓TP53*, ↑TPX2, ↓UBB*, ↓WNT1	17	15	Cell Cycle, Dermatological Diseases and Conditions, Genetic Disorder
5	↑CALB1*, ↓CAT, ↓CROT*, ↑CYP11A1, ↓EPH2*, ↓ES22*, ↓FBXO2, ↓G0S2*, ↑GCLC*, ↓GHI, ↓GHR*, ↓GRN*, ↓HGFA, ↓HPR11*, ↓HRASL53*, ↓HSPA4*, ↓IGFALS, ↓IL1B*, ↓ITGA1*, ↓ITGB1*, ↓MIA, ↑P2RX7, ↓PPP1R12A*, ↓PRSS8, ↑PTGDS*, ↓SLCIA3*, ↓SLC20A1*, ↓SLC3A1*, ↓SLC3A2, ↓SLC7A8*, ↓SMPD2*, ↓SPINT1, ↓TEK, ↓UGDH*, ↓VEGFC	15	14	Carbohydrate Metabolism, Molecular Transport, Small Molecule Biochemistry
6	↑4930486L24RIK, ↑AVP*, ↓CTSH, ↓CYP4B8, ↓ECH51, ↓FMO2*, ↓FOS*, ↓HPGD*, ↓LRRN6A, ↑MARI3*, ↑NGFR, ↓NIPSNAP1, ↓NTE3, ↓PABPC4, ↓PAH, ↓PAR6B, ↓PAR6G, ↓PRDX1, ↓PRKCI*, ↓PRKDC*, ↓PRRX1*, P59, ↓RPLP0 (includes EG:6175)*, ↑RPS7, ↓RRM1*, ↓RTNHR, ↓RTN4RL2, ↓SMARCA4*, ↓SMARCC1, ↓SPRY2*, ↓STIL1, ↓TOR2A, ↓WEE1*, ↓YWHAZ*, ↓ZFP36*	15	14	Cellular Development, Cellular Growth and Proliferation, Nervous System Development and Function
7	↑ACAA2*, ↑AKR1B10, ↓ALDOC*, ↑AMH, ↑AR, ↓CDKN1A, ↓CES1 (includes EG:1066), ↑CUL5, ↓ERBB2*, ↑F9*, ↓FOXG1B, ↓FOXH1, ↓GHR*, ↓GTF2E1, ↑GTF2F2*, ↑GTF3H1, ↓HSPA1B*, ↑JARID1B, ↓KLU3, ↓LIL1B1, ↓LGALS1, ↑LUM, ↑MIB167, ↓MUC2, ↓PARP2, ↓POLR2A*, ↓PSPC1*, ↑SOX9*, SPDEF, SRY, ↓TCEB3*, ↑TRAK1, ↑TUSP14*, ↑TYHDCl*	15	14	Cancer, Reproductive System Disease, Cell Cycle
8	↑ACSL1*, ↑ADH1C (includes EG:126), ↓AKT1*, ↓APOD*, ↓CALB1*, ↑CYP26A1, ↓DLCL1, ↓DLG4*, EIF4G1, ↓E51 (includes EG:13884)*, ↓FABP3, FOXO3A (includes EG:45335), ↓GGPC*, ↓GRD1*, ↓GSTA1, ↓GUCY1A2*, ↑GUCY1B3, ↓HADHA, ↓HMGCS2*, ↓HSD11B2, ↓INS1, ↓LCAT*, ↓PABPC2*, ↓PDE3B*, ↓PEX11A*, ↑RLIN, ↓RAMP1, ↓RETSAT1*, ↑RNF4*, ↓RXRA*, ↓SLC37A4*, ↑SP1*, ↑TCF20, ↓TRIP10, ↓UGT1A8 (includes EG:54576)*	15	14	Lipid Metabolism, Small Molecule Biochemistry, Carbohydrate Metabolism
9	↑ARG1, ↓CEBPA*, ↑CSD1*, ↓CTR1*, ↓CYP3A5, ↓D8T*, ↓DDX21, ↑EP400*, ↓GRP, ↓HBD, ↓HGF*, ↑IT1V1, ↓LNC2*, ↓MGST3*, ↓MYC, ↓NOSIP, ↓NR112, ↓PDCD8*, ↓PDL1, ↓PKL1*, ↓PPY, ↓PSMCS, ↓PSMD6*, ↓PTN*, ↓RAB31*, ↓RARRES2*, ↓RINI, ↓S100A9, ↑SNRP70*, ↓SNRPN, ↓STRAP*, ↓TAGLN2*, ↓TNFAIP6*, ↓TSPO, ↓UGT1A6	14	13	Cancer, Gastrointestinal Disease, Hepatic System Disease
10	↑AIF1, ↑ARG1, ↑ARG2*, ↓BMP1*, ↓CSAR1, ↓CAMP*, ↓CD52*, ↓CD86*, CLEC4E, ↓CTSH, ↓CXCR1, ↑CYB561, ↓CYP27A1*, ↓DECR1*, ↓EPHA3, ↓FEZ1, ↓FLBP1A*, ↓FMO3, ↓GOTT1, ↑ICOS*, ↓IFNG, ↓IL13, ↓IL15, ↓IL12RB2*, ↑IL13RAP, ↑IL1R1*, ↓NP, ↓OGN, ↓PHLDA1*, ↓PLEK, P5G1, ↓RFXANK1*, ↑STAR, ↓TMED3, ↓VHL*	14	13	Amino Acid Metabolism, Small Molecule Biochemistry, Immune Response
11	↑ANKA1*, ↓CDH1*, ↓CDH4, ↓CLTC*, ↓CST3*, ↓CTSH, ↑CYP11A1, ↓DGKD, ↓EGF, ↓EGR2, ↓GHR*, ↓GRIA2*, ↑GRIPAP1, ↑GTF2A1, ↓GZMC, ↓IGFALS, ↓INSL3, ↓ITGAE*, ↓MGAT3, ↓NUP54, ↓PLCD1, ↓PP1B*, ↓PRL, ↓PRM1, ↓PRM2, ↓PVRL2*, ↓RPSA*, ↓SCD*, ↓SH3GLB1*, ↓SVS5, ↓TBP*, ↓TMSB4X*, ↓TNP1*, ↓TNP2, ↓YB2	14	13	Cellular Development, Reproductive System Development and Function, Organismal Development
12	↑ARID4B*, ↓B2M*, ↓CDH22*, CELSR1, ↑CHD4*, ↓CTNNB1*, ↓DPEP1, ↑DST*, ↓DYNC111*, ↑F2, ↓FABP1*, ↓FGL2*, ↓GAD1*, ↓H2-Q1, ↓HDAC2*, ↓HDAC1 (includes EG:3065)*, ↓HLA-A*, ↓HLA-E*, ↓HLA-G, ↓HMG20B, ↓HOP*, ↓HTRA1*, ↓IF130*, ↓IFNG, ↓ILRC1*, ↓ILRC2, ↓ILRC3, ↑NALP12, ↓PLEK, QDM, ↑SAP130, ↓SILV, ↓SMTN*, ↑ST13*, ZBTB12	12	12	Gene Expression, Cancer, Gastrointestinal Disease
13	↓ADRA2A*, ↑BRAF, ↑CAPZA2*, ↓CDKN2A, ↑CFB, ↓COL5A2*, ↓CTSK*, ↓DYRK1A, ↓EGFR*, ↓FGF2*, ↑FUS*, ↓GLUL*, ↓GPC1*, HRAS, ↑KCNK1*, ↑MYOM1*, ↓PEBP1*, ↑PIPSK1A*, ↑PLCE1, ↓PLCL1, ↑PRKAB2, ↓PTPRS (includes EG:5802), ↑RAB5C*, RADS1AP1, ↑RAPGEF2*, ↑RASGRP1, ↓RHEB*, ↑RNF41, ↓RT1-CL*, ↓SHC3, ↓SMARCB1*, ↑SPRY1, ↓SPRY2*, ↓SPRY4, ↓ZNF655*	11	11	Cancer, Neurological Disease, Tumor Morphology

Figure 44 : Réseaux de gènes affectés après une seule administration de FM à 150 mg/kg

Analyse des gènes modulés 48 h (C) après l'administration unique de FM.

Un score de 5 équivaut à une p-value de 10⁻⁵. Les gènes en gras correspondent aux gènes répandant aux critères de sélection. Chaque réseau peut contenir un maximum de 35 gènes.

Un certain nombre de réseaux, communs ou spécifiques à chaque temps, apparaît statistiquement modulé par le FM. Ainsi 3, 9 et 13 réseaux sont statistiquement modulés (score ≥ 10) respectivement à 8 h, 24 h et 48 h après une administration de FM à 150 mg/kg. Ces réseaux comprennent de nombreuses fonctions relatives au métabolisme des lipides, à la croissance et prolifération cellulaire, au cancer, à la mort cellulaire ainsi qu'à la réponse immunitaire

Nous nous sommes, dans un premier temps, intéressés au métabolisme des lipides modulés à 24 h et 48 h. Cette fonction est retrouvée dans les réseaux n° 2 et 5 à 24 h et dans le réseau n° 8 à 48 h. La figure 45 représente les transcrits statistiquement modulés, impliqués dans cette voie métabolique.

Métabolisme des lipides

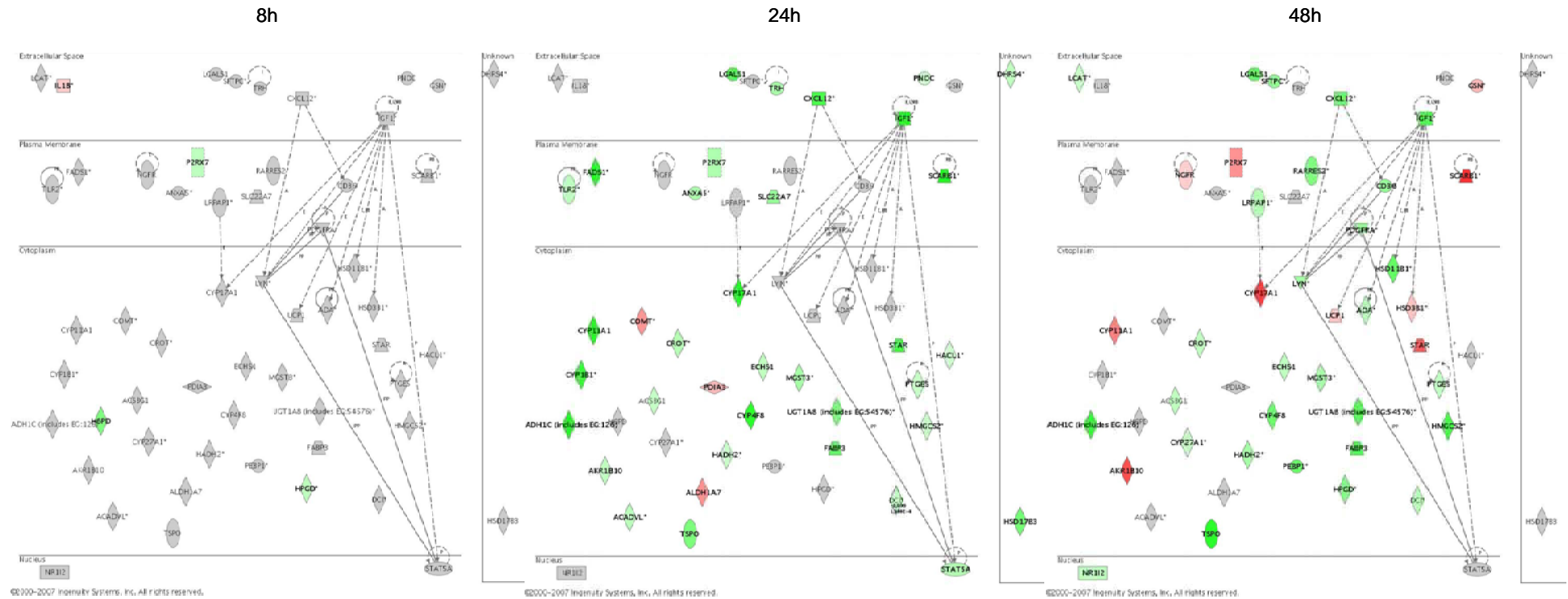


Figure 45 : Transcrits impliqués dans le métabolisme des lipides, dont le niveau d'accumulation est modulé après une administration unique de FM à 150 mg/kg.

L'intensité de coloration des transcrits indique le degré de sur- (rouge) ou de sous-accumulation (vert). Les transcrits en gris correspondent aux gènes présents sur la puce mais ne répondant pas aux critères de sélection. Les transcrits en gras correspondent aux « focus gene ». Les flèches représentent les relations rapportées dans la littérature, entre les différents gènes/produits de gènes.

On constate qu'à 8 h très peu de transcrits participant à cette voie métabolique sont modulés. A 24 h, pratiquement tous les transcrits modulés sont sous-accumulés et à 48 h seuls quelques transcrits de cette voie sont sur-accumulés.

Parmi les transcrits participant à la biosynthèse des stéroïdes et dont le niveau d'accumulation est modulé après une seule administration de FM, certains sont également modulés dans la précédente étude, après 28 jours d'exposition à la forte dose de FM (150 mg/kg/j). Les transcrits Cyp17a1, Cyp11a1, Star et Scarb1 sont sous-accumulés à 24 h alors qu'ils sont sur-accumulés à 48 h ainsi qu'après 28 jours de traitement. Ces transcrits ont également déjà été décrits dans la littérature comme étant modulés après une exposition plus ou moins longue au FM (Ohsako *et al.* 2003; Zhou *et al.* 2005). D'autre part, les transcrits Hmgcs2, Acadvl, Echs1, Acsbg1, Ugt1a8, Fabp3 et Crot, sur-accumulés après 28 jours de traitement, sont sous-accumulés à 24 h et 48 h après une administration unique de FM. A 48 h, le niveau d'accumulation de ces transcrits n'est pas affecté malgré l'augmentation du niveau de testostérone plasmatique.

Ainsi, le profil d'accumulation des transcrits Cyp17a1, Cyp11a1 participant à la biosynthèse de la testostérone, et de Star et Scarb1 codant pour des protéines de transport du cholestérol, corrobore le profil du niveau de testostérone plasmatique mesuré aux différents temps de sacrifice. Ces observations supposent que ces transcrits soient des gènes clefs, modulés dans un premier temps pour répondre au besoin de la cellule. On peut supposer que les autres transcrits, retrouvés sous-accumulés à 48 h malgré l'induction de la synthèse de la testostérone, soient induits plus tardivement pour répondre à l'effet du FM.

Les profils d'accumulation des transcrits observés dans cette étude, confirment l'effet supposé agoniste du FM à 24 h, suivi de l'effet classique antagoniste à 48 h. Le FM induirait à 24 h, par un mécanisme de rétrocontrôle, une sous-accumulation des transcrits impliqués dans la synthèse de la testostérone, puis du fait de la restauration de son effet antagoniste à 48 h, il induirait l'activation de ces transcrits, stimulant la synthèse de la testostérone.

Nous nous sommes ensuite intéressés aux fonctions biologiques associées à la réponse immunitaire ainsi qu'aux phénomènes d'inflammation. Ces fonctions apparaissent modulées dès 24 h après l'administration du FM (Figure 44 et 46).

Réponse immunitaire et inflammatoire

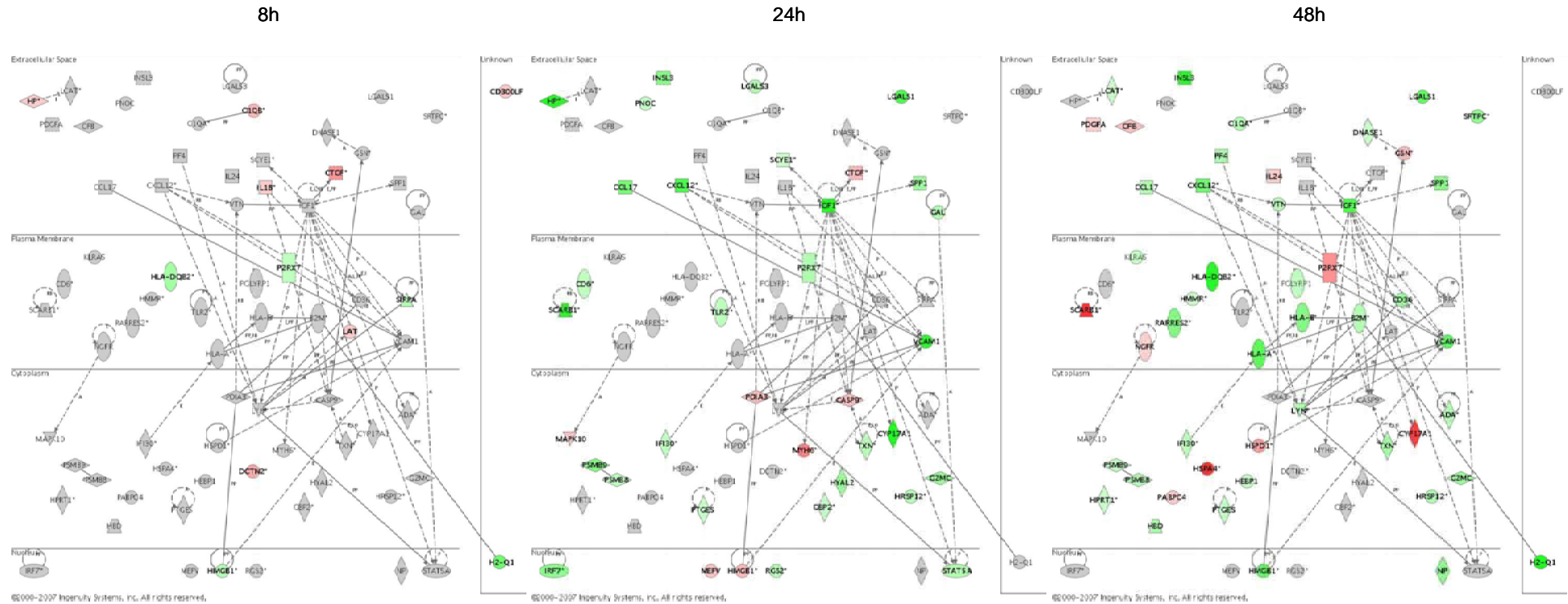


Figure 46 : Transcrits impliqués dans la réponse immunitaire et inflammatoire, dont le niveau d'accumulation est modulé après une administration unique de FM à 150 mg/kg.

L'intensité de coloration des transcrits indique le degré de sur- (rouge) ou de sous-accumulation (vert). Les transcrits en gris correspondent aux gènes présents sur la puce mais ne répondant pas aux critères de sélection. Les transcrits en gras correspondent aux « focus gene ». Les flèches représentent les relations rapportées dans la littérature, entre les différents gènes/produits de gènes.

Suite au traitement FM, nous observons à 8 h, très peu de transcrits modulés. Les transcrits H2-q1 et Hla Dqb2, impliqués dans les complexes majeurs d'histocompatibilité (CMH), respectivement de classe I et II, et participant tous les deux à la présentation antigénique sont sous-accumulés, et C1qB, Lat et Il18, codant pour des protéines participant à la réponse immunitaire sont sur-accumulés. Au temps 24 h, nous constatons principalement une sous-accumulation de transcrits impliqués dans ces fonctions biologiques. Igf1, Ifi30, Irf7, Hp, Lgals1 et Lgals3, ainsi que les transcrits codant pour les cytokines et chimiokines Ccl17, Cxcl12, Spp1, Scye1, impliqués dans les processus d'inflammation, sont sous-accumulés suite au traitement FM Stat5a, Hrsp12, Cd6 et Tlr2, participant à la réponse immunitaire, sont eux aussi sous-accumulés. Après 48 h, les cytokines et chimiokines Ccl17, Cxcl12, Cxcl14, Spp1 et Pf4, ainsi que les transcrits Lgals1, Igf1 et Ifi30, participant aux processus d'inflammation, sont aussi sous-accumulés. On observe également la sous-accumulation des transcrits Ada, C1qA et Hrsp12, de Cd36 et Cd52, récepteurs présents à la surface des macrophages, ainsi que de Hla Drb2 du CMH II et HlaA, HlaE et β 2m du CMH I. Seuls quelques transcrits sont sur-accumulés à 48 h, incluant Ifnar1, Igsf4d, Cfb, Il17re et Il24. Nous avons également constaté la sous-accumulation de 2 transcrits, Psmb8 et Psmb9, codant pour des protéines de l'immunoprotéasome, 24 h et 48 h après l'administration du FM.

Il est intéressant de souligner qu'un certain nombre de ces transcrits, impliqués dans la réponse immunitaire ou dans les phénomènes d'inflammation, sont également affectés dans l'étude sub-aigüe de 28 jours. Ainsi, on peut constater la modulation, après 28 jours de traitement au FM, des transcrits codant pour des protéines du CMH (Hla Dqb2), des cytokines et chimiokines (Spp1, Cx3cl1), des interleukines (Il18, Il24) et pour des protéines de l'immunoprotéasome (Psmb8 et Psmb9).

Par ailleurs, certains transcrits modulés dans cette étude aigüe ont déjà été décrits comme modulés par les androgènes. HlaE et β 2m, codant pour des protéines du CMH de classe I, semblent être régulés négativement par la testostérone au niveau du testicule (Sadate-Ngatchou *et al.* 2004). Des études sur la prostate ont montré que les gènes codant pour Il18, Psmb9 ainsi que pour divers récepteurs aux cytokines sont également androgéno-dépendants (Desai *et al.* 2004; Asirvatham *et al.* 2006).

Au niveau du testicule, les macrophages représentent 25 % de la population cellulaire interstitielle chez le rat. Ces cellules expriment de nombreux récepteurs impliqués dans les phénomènes de phagocytose. Elles sont également capables de sécréter diverses molécules telles que les cytokines, et expriment de nombreuses protéines à leur surface dont le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I, permettant une présentation antigénique aux lymphocytes. Le fait d'observer à 8 h, 24 h et 48 h après le traitement au

FM, une régulation négative de nombreuses cytokines et protéines impliquées dans les phénomènes de présentations antigéniques, participant à la réponse immunitaire et inflammatoire, suppose que le FM pourrait avoir un rôle immunosuppresseur au niveau des macrophages dans les testicules de rat. Quelques études montrent que certains xénobiotiques, capables d'affecter le système endocrinien et l'appareil reproducteur, pourraient également perturber le système immunitaire. En effet, l'existence d'interactions complexes entre le SE et le système immunitaire est aujourd'hui reconnue (Tomaszewska and Przekop 1997). Après une lésion, certaines hormones sont capables de supprimer, d'atténuer ou d'induire une réponse immunitaire. Chez le mâle, la testostérone semble être capable de diminuer la prolifération des lymphocytes et la sécrétion des cytokines. Il a également été montré que chez des rongeurs castrés ou exposés à un antiandrogène, supprimant ainsi l'effet des androgènes endogènes, la réponse immunitaire peut être modulée (Wichmann *et al.* 1996; Wichmann *et al.* 1997; Messingham *et al.* 2001).

Un des objectifs de cette étude aigüe est d'évaluer la capacité des outils «-omiques » à détecter précocement des modulations du niveau d'accumulation de transcrits permettant de prédire les effets du FM au niveau de l'appareil reproducteur mâle, connus pour se mettre en place à plus long terme. Nous avons tout d'abord cherché à identifier des gènes et famille de gènes impliqués dans les processus de différenciation et de prolifération cellulaire. En effet nous avons constaté la mise en place d'une hyperplasie des cellules de Leydig au sein des testicules d'animaux traités pendant 28 jours au FM alors qu'aucune altération de ces cellules n'est observée suite à une administration unique de FM à la même dose.

Comme l'analyse histologique des coupes de testicules n'a révélé aucune différence entre les animaux contrôles et traités, nous avons réalisé un marquage immunohistochimique contre le marqueur de prolifération cellulaire Ki67, sur ces mêmes coupes histologiques de testicules de rats contrôles et traités, 8 h, 24 h et 48 h après une administration unique de FM. Cette analyse permet de marquer de façon très spécifique toutes les cellules engagées dans le cycle cellulaire. Nous avons utilisé les animaux de l'étude sub-aigüe, traités à la forte dose de FM pendant 28 jours, comme contrôles positifs. L'analyse des cellules de Leydig des testicules d'animaux contrôles et traités au FM a révélé des différences de prolifération statistiquement significatives (t-Test, $p \leq 0.05$) aux temps 8 h et 48 h (Figure 47).

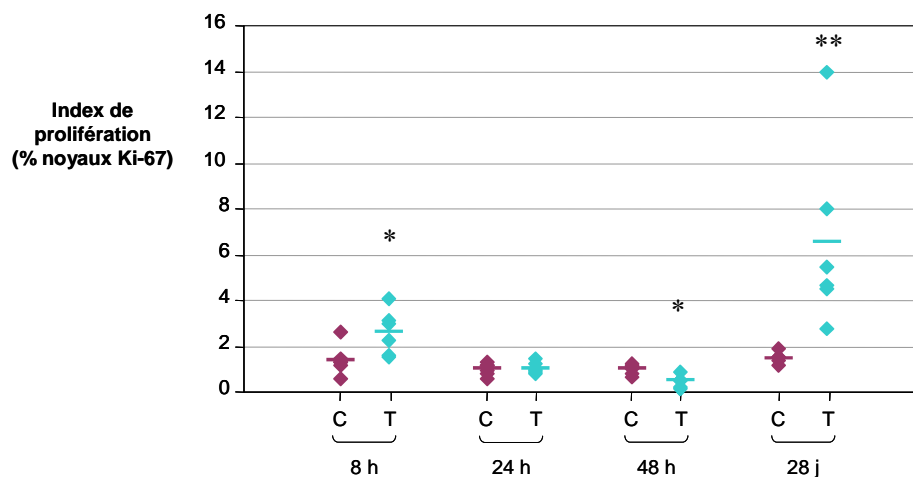


Figure 47 : Effets du FM sur la prolifération des cellules de Leydig.

Les coupes histologiques des testicules des rats contrôles et traités, 8 h, 24 h et 48 h après l'administration du FM à 150 mg/kg ainsi qu'après 28 jours d'exposition répétée (contrôle positif), ont été marquées au Ki-67. Un minimum de 1000 cellules de Leydig par animal a été compté. L'index de prolifération (exprimé en % de cellules positives) représente le nombre de cellules positives au Ki-67 par rapport au nombre de cellules totales. (t-Test, *: $p \leq 0.05$, **: $p \leq 0.001$)

Nous avons analysé les profils d'accumulation des transcrits décrits dans la littérature comme étant impliqués dans les processus de différenciation et de prolifération des cellules de Leydig chez le rat. La [figure 48](#) représente les transcrits impliqués dans la croissance et la prolifération cellulaire, et modulés après une seule administration de FM à 150 mg/kg. Nous observons la sous-accumulation, 24 h après l'administration du FM, de *Insl3* et *Igf1*, marqueurs spécifiques de la différenciation des cellules de Leydig, ainsi que des facteurs de croissance *Gdf1*, *Ngfrap1*, *Lgals1* et *Ssp1*. A 48 h, les transcrits *Pdgfa* et *Pdap1*, marqueurs de la prolifération cellulaire ainsi que le facteur de croissance *Ngfr*, sont retrouvés sur-accumulés. Par contre, les marqueurs spécifiques de la différenciation des cellules de Leydig, *Insl3* et *Igf1*, le récepteur de facteur de croissance *Pdgfra*, impliqué dans la prolifération des cellules de Leydig ainsi que les facteurs de croissance *Lgals1*, *Ssp1* et *Ptn*, sont sous-accumulés 48 h après l'administration du FM.

L'analyse du profil d'accumulation, aux temps 8 h, 24 h et 48 h, des différents transcrits connus pour être impliqués dans la régulation de la prolifération cellulaire, n'apporte aucune évidence quant au fait qu'une exposition unique au FM puisse moduler la prolifération des cellules testiculaires, et ainsi prédire l'hyperplasie des cellules de Leydig observée après une exposition répétée au FM. On peut imaginer que le FM n'affecte le niveau d'accumulation de ces transcrits qu'après un laps de temps plus important, ainsi il serait intéressant d'effectuer une analyse similaire à des temps relativement plus tardifs.

Croissance et Prolifération cellulaire

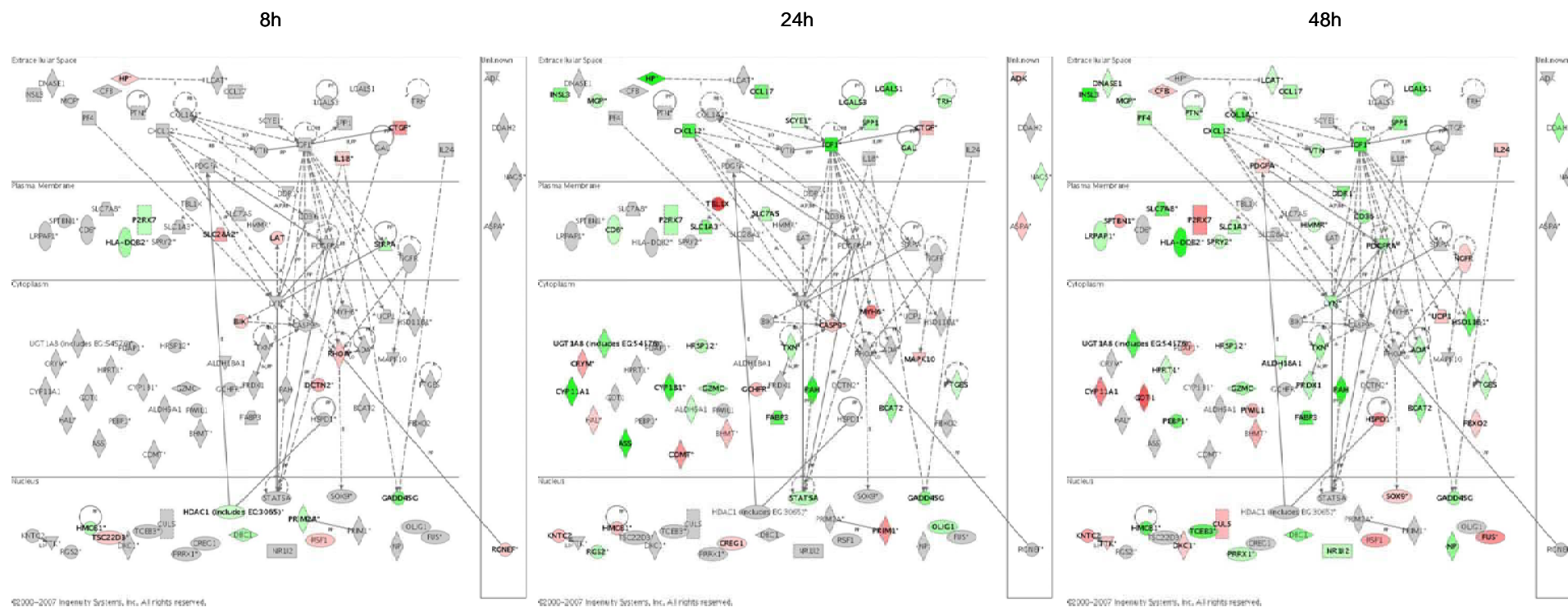


Figure 48 : Transcrits impliqués dans la croissance et la prolifération cellulaire, dont le niveau d'accumulation est modulé après une administration unique de FM à 150 mg/kg.

L'intensité de coloration des transcrits indique le degré de sur- (rouge) ou de sous-accumulation (vert). Les transcrits en gris correspondent aux gènes présents sur la puce mais ne répondant pas aux critères de sélection. Les transcrits en gras correspondent aux « focus gene ». Les flèches représentent les relations rapportées dans la littérature, entre les différents gènes/produits de gènes.

Nous avons ensuite focalisé notre attention sur les transcrits participant à des processus plus précoces, tels que la régulation du cycle cellulaire et de la réplication de l'ADN, fonctions qui apparaissent modulées dès 8 h dans le réseau 3, à 24 h dans le réseau 9 et à 48 h dans le réseau 4, ainsi que dans les processus de transcription et de traduction, fonctions observées dans les réseaux 10 et 12 à 48 h. La modulation de ces processus pourrait éventuellement affecter, en amont, les mécanismes de prolifération cellulaire. Ainsi, à 8 h, les transcrits Rhoa, Cdc14a, Il18, Tsc22d3, Rsf1 sont sur-accumulés, alors que Hmgb1, Hdac1 et Prim2a sont sous-accumulés. A 24 h, Kntc2, Prim1, Creg1, Hmgb1 et Tbl1x sont sur-accumulés, tandis que les transcrits Stat5a, Olig1, Hrsp12, Lgals3 et Scye1 sont sous-accumulés. A 48 h, les transcrits Kntc2, Dkc1, Cul5, sont sur-accumulés, alors que la cycline G1 et Hrsp12 apparaissent sous-accumulés. De nombreux facteurs de transcription Atf6, Maf1, Tcf20, Tfdp2, Spdef, Ubtf, Rsf1 et Sox9, participant à la régulation de l'expression des gènes, sont sur-accumulés à 48 h tandis que d'autres, comme Prrx1, Hmgb1, Nr1i2, Np, Tceb3, Tcea3, Sp5, Stat1 et Ada apparaissent sous-accumulés. Nous avons observé la modulation de certains transcrits impliqués dans la régulation de la traduction, avec une sous-accumulation à 24 h de Ass et Pah, et une sur-accumulation à 48 h de Hspd1, Got1, Piwil1, Eif3S2 et Pdia3 également observés modulés dans l'analyse protéique à 48 h.

Cette analyse nous a permis de mettre en évidence la modulation de nombreux transcrits participant à la régulation du cycle cellulaire et de l'expression des gènes, et a révélé des profils d'accumulation assez complexes. Une analyse plus poussée semble être nécessaire afin de corrélérer ces modulations moléculaires aux mécanismes de prolifération cellulaire.

Nous nous sommes ensuite intéressés aux transcrits participant de façon directe et indirecte à la spermatogenèse afin d'étayer l'hypothèse soulevée précédemment, concernant l'effet potentiellement délétère du FM sur la fertilité. En effet nous avons constaté la modulation de protéines qui participeraient à certaines étapes nécessaires à l'obtention de spermatozoïdes matures et fertiles. Concernant l'analyse transcriptomique, nous avons également observé la modulation de transcrits codant pour des protéines impliquées dans ces processus.

A 24 h et 48 h après l'exposition au FM, le niveau d'accumulation de nombreux transcrits, impliqués dans les jonctions serrées et adhérentes établies au niveau des cellules testiculaires, est modulé. Les jonctions serrées ([Figure 49](#)), établies entre deux cellules de Sertoli, constituent une barrière hémato-testiculaire, qui permet de créer un microenvironnement nécessaire au bon développement et mouvement des cellules

germinales (Mruk and Cheng 2004). Cette jonction est constituée de nombreuses protéines transmembranaires dont les 2 principaux représentants sont l' Occludine et les membres de la famille des Claudines. A l'heure actuelle, 7 différentes Claudines, participant à cette jonction spécialisée, ont été localisées au niveau du testicule (Gye and Ohsako 2003). Nous avons observé la sous-accumulation à 24 h, du transcrite Claudine 9 (Cldn-9) qui, à ce jour, n'a jamais été identifié au niveau de cet organe. Ces protéines transmembranaires sont associées, entre autre, à l' Afadine qui interagit avec la Spectrine, elle-même reliée aux microfilaments d' Actine du cytosquelette. Les transcrits Afadine 6 (AF-6) ainsi que Spectrine $\beta 2$ (Sspb2) apparaissent sur-accumulés respectivement à 24 h et 48 h après l'exposition unique au FM. Plusieurs études ont souligné l'importance de ces protéines au niveau du testicule, ainsi que la nécessité de l'intégrité de cette barrière au déroulement d'une spermatogenèse normale. En effet, le niveau d'accumulation de la Claudine 11 est retrouvé modulé chez des rats traités *in utero* avec du FM (Florin *et al.* 2005) et des souris déficientes en Claudine 11 se révèlent être infertiles (Gow *et al.* 1999).

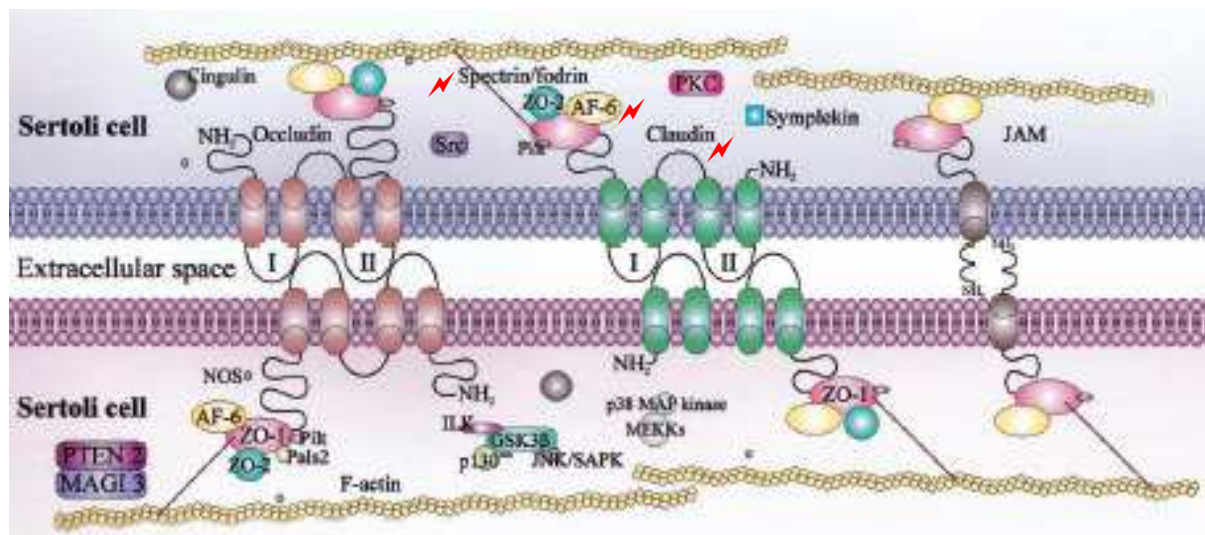


Figure 49 : Schéma illustrant l'architecture moléculaire des 3 complexes protéiques retrouvés au niveau des jonctions serrées dans les cellules de Sertoli.

Le niveau d'accumulation de la claudine 9, de la spectrine et de l'afadine 6 est modulé après une exposition courte au FM. Ces protéines sont impliquées dans l'établissement des jonctions serrées et de la barrière hémato-testiculaire. D'après Mruk and Cheng 2004.

L'autre jonction spécialisée rencontrée au niveau du testicule est une jonction adhérente modifiée, appelée spécialisation ectoplasmique (ES) (Mruk and Cheng 2004). Cette jonction (Figure 50) s'établit entre les cellules de Sertoli et les cellules germinales, et utilise des filaments d'actine à son site d'attachement. Aujourd'hui, 4 unités protéiques fonctionnelles ont été décrites au niveau des jonctions adhérentes, parmi lesquelles les complexes Nectine-Afadine-Pousine et Vézatine-Myosine VII semblent être modulés par le FM. En effet, l'AF-6 et la Myosine 7 (Myh7) sont suraccumulés 24 h après le traitement au FM. De plus, au niveau du testicule, les complexes comportant ces 2 protéines semblent être

spécifiques de la ES. D’autres protéines, également modulées après traitement au FM, sont nécessaires à l’établissement et à la régulation de cette jonction spécialisée : la Testine, dont le transcrit apparaît être sur-accumulé à 24 h et 48 h, les GTPase Rho RhoA et RhoB sur-accumulés respectivement à 8 h et 24 h, la protéase Cathepsine H (Ctsh) dont le transcrit est sous-accumulé à 24 h et 48 h, ainsi que les protéines de liaison à l’Actine, régulant la polymérisation et la stabilisation des filaments d’actine : la Ssh3 sur-accumulée à 8 h, la Profiline (Pfn2) sous-accumulée à 24 h, la Gelsoline (Gsn) sur-accumulée à 48 h et la Cxcl12 sous-accumulée à 24 h et 48 h.

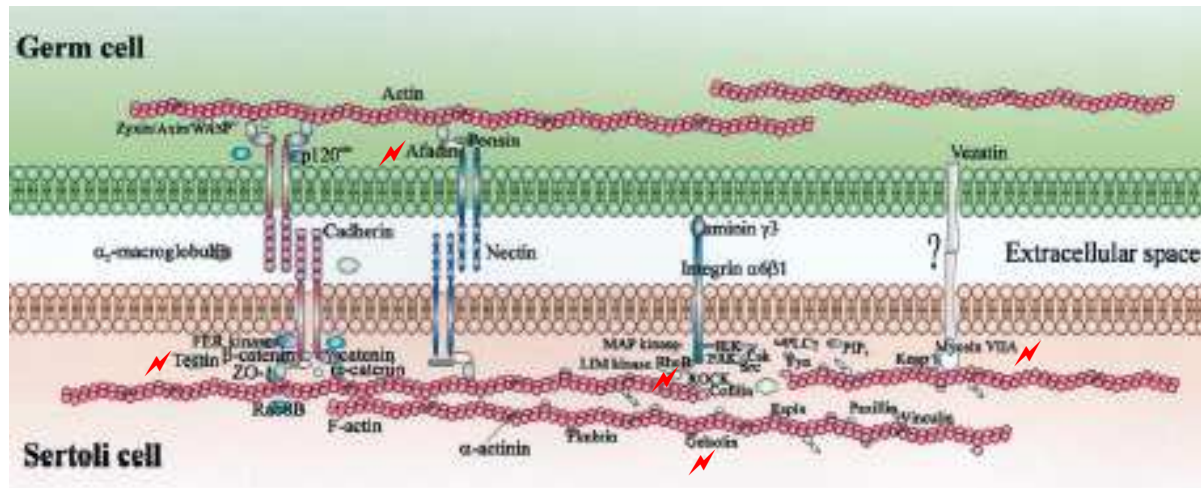


Figure 50 : Schéma illustrant l’architecture moléculaire des 4 complexes protéiques retrouvés au niveau des jonctions adhérentes entre les cellules de Sertoli et germinales.

Le niveau d’accumulation des transcrits AF-6, Myh7, testine, Gsn, RhoB et Ctsh est modulé après une exposition courte au FM. Ces protéines sont impliquées dans l’établissement et la régulation de la spécialisation ectoplasmique. D’après Mruk and Cheng 2004.

L’ES est impliquée dans la stabilisation des jonctions établies entre les cellules testiculaires ainsi que dans les processus de spermiogenèse et de spermiation. Cette jonction faciliterait le mouvement des spermatozoïdes en développement ainsi que la bonne orientation des spermatozoïdes allongés, et préviendrait le relargage prématuré des spermatozoïdes dans la lumière du tube séminifère.

Il a été montré que les microtubules ainsi que de nombreuses protéines moteurs, présents au niveau de cette jonction spécialisée, participent également aux mouvements des spermatozoïdes (Mruk and Cheng 2004). Nous avons observé la modulation de 2 de ces protéines moteur, la Dynéine 2 (Dnci2) dans l’analyse protéomique et du transcrit Dynéine 1 (Dnci1) qui est sous-accumulé à 48 h dans l’analyse transcriptomique.

Nous avons ainsi montré que le FM semble capable de moduler le niveau d’accumulation de certains transcrits codant pour des protéines impliquées dans la barrière hémato-testiculaire ainsi que dans la spécialisation ectoplasmique. Ces données sont en accord avec de précédentes études. En effet, l’équipe de Chisato Mori a montré que le FM

était capable de perturber l'ES (Anahara *et al.* 2006a; Anahara *et al.* 2006b). Une diminution du niveau d'accumulation de la cortactine, protéine impliquée dans l'ES, ainsi qu'une déformation de l'acrosome et du noyau des spermatozoïdes allongés sont observés chez des souris adultes exposées pendant 5 jours au FM ainsi qu'après une administration unique (injection sous-cutanée) (Anahara *et al.* 2006a). Guy M.C. et Ohsako S. ont également montré l'effet délétère du FM au niveau de la barrière hémato-testiculaire (Gye and Ohsako 2003). De plus, une suppression de testostérone endogène semblerait pouvoir moduler l'expression de certaines protéines impliquées dans la régulation de l'ES (Wong *et al.* 2005).

Par ailleurs, nous avons constaté la modulation du niveau d'accumulation de transcrits codant pour divers canaux ioniques, avec une sous-accumulation des transcrits codant pour les canaux calcium Cch11a3 à 8 h et CaT1 à 24 h, chlore Clic6 à 24 h, et potassium Kcng2 à 48 h, ainsi qu'une sur-accumulation des transcrits codant pour les canaux sodium Scn2a1 et Slc13a3 à 24 h et Slc28a2 à 8 h. Au niveau du testicule, les cellules de Sertoli secrètent un fluide, composé de nombreux ions et molécules organiques solubles. Ce fluide joue un rôle important dans la distribution des nutriments aux cellules germinales, dans le relargage des spermatozoïdes et dans le transport de facteurs régulateurs impliqués dans la communication entre les cellules du tube séminifère. La régulation des gradients ioniques et la sécrétion d'ions présents dans ce fluide apparaissent être primordiales aux processus de développement des cellules germinales et semblent être androgéno-dépendantes. Une étude a montré l'effet d'un antiandrogène, l'acétate de cyprotérone, sur la concentration de nombreux ions composant le liquide séminale (Jenkins *et al.* 1983). Un certain nombre des canaux ioniques, probablement impliqués dans la régulation fine de ces ions, semble également être modulé par le FM.

L'ensemble de ces données suggère que le FM pourrait affecter les jonctions spécialisées, ainsi que les canaux ioniques, qui jouent un rôle primordial dans le développement des cellules germinales, dans leur mouvement, leur orientation et le relargage des spermatozoïdes matures et fertiles. Ainsi, on peut émettre l'hypothèse que le FM est capable de perturber le bon déroulement de la spermatogenèse et de la spermiogenèse malgré le fait qu'aucune altération au niveau histologique n'ait pu être relevée après une exposition unique au FM.

3. Résultats Supplémentaires

3.1 Publication 2

Bien qu'il soit établi que l'exposition à des composés de type antiandrogénique, tel que le FM, pendant la vie fœtale ait pour conséquence de nombreuses anomalies au niveau du développement du tractus génital mâle (Gray *et al.* 1999b; McIntyre *et al.* 2001), les mécanismes cellulaires et moléculaires à l'origine de ces altérations demeurent jusqu' alors inconnus. Plusieurs études ont montré une induction de l'apoptose au niveau des cellules germinales des testicules de rats adultes exposés au FM au cours de leur vie fœtale, avec une augmentation du niveau d'expression et une activation irréversible des caspases 3 et 6 effectrices (Omezzine *et al.* 2003), ainsi que la perturbation de certains membres pro- et anti-apoptotiques de la famille Bcl2 impliqués dans la voie mitochondriale (Bozec *et al.* 2004). La question que pose ces données est quel est le mécanisme impliqué dans l'apoptose chronique des cellules germinales adultes.

Nous nous sommes interrogés sur le rôle que pouvait avoir les cellules de Sertoli dans ce processus apoptotique des cellules germinales adultes. En effet, les cellules de Sertoli (et les cellules périlitubulaires myoïdes) qui expriment le récepteur aux androgènes (You and Sar 1998) sont les seules cellules cibles de la testostérone au niveau des tubes séminifères. Pour essayer de répondre à cette question nous avons développé un modèle de co-culture avec des cellules de Sertoli isolées de rats non traités ou traités *in utero* au FM, auxquelles sont ajoutées des cellules germinales issues de rats adultes indemnes de tout traitement. Il apparaît que les cellules de Sertoli issues de rats exposés *in utero* au FM ne sont plus capables de protéger les cellules germinales adultes contre l'apoptose (activation de la caspase 3). Dans le but d'approfondir cette question, nous avons ensuite analysé le signal androgénique reçu par les cellules testiculaires. Aucune modification du niveau de la LH, FSH, testostérone et estradiol plasmatique, du nombre de cellules de Sertoli, de l'expression des récepteurs aux androgènes n'est observée chez les rats adultes exposés *in utero* au FM par rapport au contrôle. Ces observations suggèrent que le signal androgénique n'est pas modifié à ce niveau. En revanche, l'incapacité des cellules de Sertoli de protéger contre l'apoptose les cellules germinales adultes pourrait être liée à une altération des fonctions sertoliennes. En effet, l'expression de plusieurs gènes spécifiquement exprimés dans les cellules de Sertoli adultes (AMH-RII, Cox1, Cyclin D2, Cathepsin L and GST α) apparaît être diminuée dans les testicules de rats exposés *in utero* au FM. Ainsi, l'altération de l'activité protectrice des cellules de Sertoli serait plutôt liée à une perturbation du processus de maturation de ces cellules de Sertoli au cours du développement fœtal, suite à une exposition à des antiandrogènes.

ALTERATIONS OF SERTOLI CELL ACTIVITY IN THE LONG-TERM TESTICULAR GERM CELL DEATH PROCESS INDUCED BY FETAL ANDROGEN DISRUPTION

Lamia Benbrahim-Tallaa¹, Bénazir Siddeek¹, Aline Bozec¹, Virginie Tronchon¹, Anne Florin¹, Claire Friry¹, Eric Tabone¹, Claire Mauduit^{1,2} and Mohamed Benahmed¹.

¹Inserm, U407, Oullins, F-69921 France; University Claude Bernard Lyon I, Lyon, F-69921 France; ²Hospices Civils de Lyon, Hôpital Lyon Sud, Service Anatomie Pathologique, Lyon, F-69921 France.

LBT, BS and AB contributed equally to the manuscript

MB and CM are the senior co-authors.

Short title: Sertoli cells and adult germ cell death

Address correspondence to: Mohamed BENAHMED, INSERM (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale) U407, Faculté de Médecine Lyon-sud, BP12, F-69621 OULLINS cedex, France. Tel : (+33) 4 26 23 59 18. Fax : (+33) 4 26 23 59 16, e-mail: benahmed@lyon.inserm.fr

Keywords: Sertoli cells, spermatogenesis, endocrine disruptors, fetal programming, germ cell death

Accepted in **Journal of Endocrinology**, June 2007

ABSTRACT

Fetal androgen disruption, induced by administration of the anti-androgen flutamide (0.4, 2, 10 mg/kg•day), causes in adult male rat offspring a long-term apoptosis in testicular germ cells. One of the questions raised by this observation is the role of the Sertoli cells in the adult germ cell apoptotic process. It is shown here that Sertoli cells originating from rats treated in utero with the anti-androgen (10 mg/kg•d) did no longer protect adult germ cells against apoptosis. Indeed, untreated spermatocytes or spermatids exhibited an increased ($p < 0.0001$) active caspase-3 levels when co-cultured with Sertoli cells isolated from rat testes exposed in utero to the anti-androgen. This alteration of Sertoli cell functions was not due to modifications in the androgen signal in the adult animals since plasma testosterone and estradiol, androgen receptor expression and androgen-targeted cell number (e.g. Sertoli cells in the seminiferous tubules) were not affected by the fetal androgen disruption. In contrast, this inability of Sertoli cells to protect germ cells against apoptosis could be accounted for by a potential failure of Sertoli cell functions. Indeed, adult testes exposed in utero to the anti-androgen displayed decreased levels of several genes mainly expressed in adult Sertoli cells (AMH-RII, CoxI, Cyclin D2, Cathepsin L and GST α). In conclusion, fetal androgen disruption may induce alterations of Sertoli cell activity probably related to Sertoli cell maturation which potentially leads to increased adult germ cell apoptosis.

INTRODUCTION

It has been reported that the fetal hormonal disruption induced either by chemical anti-androgens such as flutamide or by different environmental anti-androgen compounds gives rise to developmental testicular alterations (Crews & McLachlan, 2006, Newbold *et al.*, 2006) and particularly to a long-term apoptosis of germ in the adult testis (Bozec *et al.*, 2004, Florin *et al.*, 2005, Omezzine *et al.*, 2003, Uzumcu *et al.*, 2004) transmitted by male through at least 4 generations (Anway *et al.*, 2005). These observations support the concept of a fetal and transgenerational programming of adult testicular germ cell apoptosis. Although it was shown that this apoptotic process was related to a long-term increase in the expression and activation of effector caspases-3 and -6 (Omezzine *et al.*, 2003), resulting from changes in the ratio of Bcl-2 family peptides in favour of the pro-apoptotic members (Bozec *et al.*, 2004), the upstream cellular and molecular mechanisms still remain to be investigated. Indeed, one of the major question raised by these observations is related to the role of the potential Sertoli cells in the apoptotic process that affects germ cells in the adult rat testes exposed in utero to anti-androgens. Although apoptosis occurred in germ cells, in the seminiferous tubules it is Sertoli cells (and peritubular myoid cells) that are the direct target cells of testosterone action as they express androgen receptor (AR) (You & Sar, 1998). These observations would suggest that Sertoli cells (in cooperation with peritubular myoid cells?) might primarily exhibit altered functions which result in increased germ cell death process.

The aim of the present study was to determine the potential role of Sertoli cells in the adult germ cell death through the evaluation of plasma hormones that target Sertoli cells, AR expression, Sertoli cell number and functions via the evaluation of the levels of specific transcript expressed in these adult somatic cells.

MATERIALS AND METHODS

Ethics

All studies on animals were conducted in accordance with current regulation and standards approved by the INSERM (French Institute for Health and Medical Research) animal care committee.

Materials

Flutamide obtained from Sigma (Meylan, France), was dissolved in an aqueous solution of methylcellulose 400 (Fluka, Mulhouse, France) at 0.5% (w/v) and stored for a maximum of one week at approximately 5°C (\pm 3°C). Dulbecco modified Eagle medium (DME)/Ham's F12 (1:1) medium, reverse transcriptase (M-MLV), polyacrylamide 37.5:1 solution, ponceau red and TRIzol[®] were obtained from Life Technologies (Eragny, France). Collagenase/dispase and protease cocktail inhibitor were obtained from Roche (Mannheim, Germany). Gentamycine, 3-cyclohexylamino-1-propanesulfonic acid (CAPS), Kodak XOMAT films, antibody raised against actin, Diaminobenzidine (DAB), sodium bicarbonate, HEPES, DNaseI, MOPS, SDS, random primers and bovine serum albumin (BSA) were purchased from Sigma (Meylan, France). Rabbit polyclonal anti-human GST α antibody (NCL-GST α) (Mehta *et al.*, 1994, Murray *et al.*, 1995) was purchased from Novocastra-TEBU (Le Perray en Yvelines, France). Peroxidase-conjugated goat anti-rabbit immunoglobulin G and covalight chemiluminescence detection kit were obtained from CovalAb (Lyon, France). Androgen receptor rabbit polyclonal antibody was obtained from Santa Cruz Biotechnology, (Santa Cruz, CA). Antibody diluent, Harris' hematoxylin and Envision⁺ kit were obtained from Dako (Copenhagen, Denmark). Bradford reagents and Pierce detection kit were purchased from Bio-Rad Laboratories (Richmond, CA). Hybond C membranes [α -³³P] dATP and [α -³²P] dCTP were purchased from Amersham Biosciences (Aylesbury, UK). Proligo SA (Paris, France) was the source for oligonucleotides primers. Random priming DNA labeling kit and Taq polymerase were purchased from Promega Life Science (Madison, WI). Schleicher & Schuell PVDF membrane was obtained from Merck Eurolab (Strasbourg, France).

Methods

Animals: in utero exposure to anti-androgens

Pregnant female Sprague Dawley rats from Charles River laboratories (St Aubin les Elbeuf, France) were administered daily the vehicle alone (methylcellulose) or increasing doses (0.4, 2, 10 mg/kg•d) of the anti-androgen flutamide by gavage from day 10 of gestation (GD 10) up to the day before delivery (GD 21 or 22) as previously described (Bozec *et al.*, 2004). After birth, male pups were grown without treatment until they were killed at 90 days by CO₂ inhalations. Only bilateral descended testes were studied in the present report. At least seven rats from three different litters were used per condition. The experiment was repeated at least three times.

Cell isolation and culture

Seminiferous tubules were isolated from adult (90-day old) testes of rats treated in utero. Once the albuginea was removed, the testicular tissues were mechanically dispersed with forceps in DME/F12 medium (supplemented with 1.2 mg/ml sodium bicarbonate, 15mM HEPES, and 20 µg/ml gentamycin) containing DNase I (0.05 mg/ml). Testicular tissues were then dispersed by collagenase/dispase treatment (0.5 mg/ml) in DME/F12 medium through mild stirring. After enzymatic dissociation, testicular cells were washed three times by submission to gravity sedimentation (3-5 min). The seminiferous tubules were washed at least three times to remove potential contaminating Leydig cells. Seminiferous tubules were dry-frozen and kept at -70°C until use for GST α expression.

In the co-culture Sertoli cell – germ cell model, Sertoli cells were isolated, by collagenase dissociation, from pre-pubertal (15 day-old) testes of rats treated in utero with the anti-androgen flutamide (0 or 10mg/kg•d) as described previously (Florin *et al.*, 2005, Goddard *et al.*, 2003). Mature germ cells (spermatocytes and spermatids) were isolated and purified from adult untreated rat testes by the centrifugation-elutriation method as previously reported (Boussouar *et al.*, 2003). The Sertoli cells were seeded in 6cm diameter Petri dishes (Falcon, Los Angeles, CA) at a density of 500,000 cells/cm² and cultured in standard conditions (Florin *et al.*, 2005). Two days after Sertoli cell isolation and culture, germ cells were added to Petri dishes generating three groups of cultured cells: Sertoli cells cultured (alone) without germ cells, Sertoli cells co-cultured with spermatocytes (500,000 cells/cm²) and Sertoli cells co-cultured with spermatids (500,000 cells/cm²). After 72 h of co-culture, the cells were either collected in an ice-cold lysis buffer (Tris 25mM, SDS 0.1%, protease inhibitor cocktail 1% vol/vol) for western blotting analysis or in 1ml of TRIzol[®] for RT-PCR analysis.

Cell type counting

For Sertoli and Leydig cell counting, ten 90 day-old rats (originating from three different litters) treated in utero with flutamide (0 or 10mg/kg•d) were used for each experimental condition. After the animals were killed by CO₂ inhalation, the testes were rapidly dissected in order to remove the connective tissue and the epididymis and were weighed. The left testis of each animal was fixed overnight in Bouin's solution by immersion. The fixed testes were weighed and were then sampled in a random systematic manner. The testes were sliced transversally into 6 pieces and the slices 1, 3 & 5 or 2, 4 & 6 were randomly processed in graded ethanol and infiltrated with JB4 resin (TAAB, Berkshire, United Kingdom). After full polymerization, 25µm sections were cut on an Ultracut microtome (Reichert-Jung Inc., Wien, Austria) using glass knives, mounted onto adhesive glass slides and stained with Harris hematoxylin. Sertoli and Leydig cells were then counted using the Optical Dissector method as described by Wreford and Sharpe (Sharpe *et al.*, 2000, Sharpe *et al.*, 1998, Wreford, 1995). The thick sections were viewed at high magnification and optically sectioned with a microscope equipped with a microcator to measure stage movement in the z axis. The top of the section was focused and a small guard area of 3µm was traversed, the microcator was zeroed, and the section was then viewed at a series of 1.5µm intervals for a further 15µm. The images of each plane were acquired using a video camera coupled with a Leitz Quantimet 570 image analyzer system (Milton Keynes, United Kingdom). Sertoli and Leydig cell nuclei were then counted in an unbiased counting frame of 6,400 µm² area giving a 96,000 µm³ volume for each field. More than 100 Sertoli or Leydig cells were counted for each animal representing at least 1,000 counted nuclei for each experimental condition. The counting results gave a direct estimation of the number of Sertoli or Leydig cell per mg of testis.

mRNA quantification

Co-amplification RT-PCR with an endogenous control: Total RNA (2 µg) was reverse-transcribed into complementary DNA. PCR was then performed on 1µl reverse transcription product as previously described (Bozec *et al.*, 2004). PCR mixes were submitted to an initial denaturing step at 95°C, followed by n cycles consisting of 30 sec at 95°C, 30 sec at hybridization temperature and 30 sec at 72°C and the reaction ended with a final extension step of 5 min at 72°C (see table 1). PCR products were subsequently resolved on 8% polyacrylamide gels, which were then exposed to a Storage Phosphor Screen and the signals were analyzed using the Cyclone™ OptiQuant Software (Packard, Meriden, CT). Results from at least 3 separate experiments were used for statistical analysis. PCR analyses were carried out from the logarithmic phase of amplification. PCRs with different cycle

numbers were realized for each primer pair to determine the minimum number of cycles necessary to detect the PCR product. Primers were designed inside separate exons to avoid any bias caused by residual genomic contamination. Moreover, for all primers, no amplification was observed when PCR was performed on RNA preparations.

Northern blotting: The GST α probe was prepared by PCR and labeled as previously described (Benbrahim-Tallaa *et al.*, 2002a). Total RNAs from adult rat testes were size-fractionated by electrophoresis on 1.2% agarose, 2.2 M formaldehyde gels. The northern blotting analysis was performed as previously described (Benbrahim-Tallaa *et al.*, 2002a). The intensities of the autoradiographic bands were estimated by densitometric scanning using Intelligent Quantifier Software (Bio-Image, Cheshire, UK). The data are expressed as GST α / 18S mRNA ratio.

Western blotting analysis

Total proteins were extracted from rat testes treated under different conditions. Protein extracts (80 μ g/well for GST α , 100 μ g/well for androgen receptor) were size-fractionated on SDS/polyacrylamide gel (Benbrahim-Tallaa *et al.*, 2002b). The membranes incubated with the rabbit polyclonal anti-GST α antibody diluted 1:1,000 or the rabbit polyclonal anti-AR antibody diluted 1:100 in a solution of TBS with 0.5% nonfat dry milk for 2 hours at room temperature. After washing with TBS, the membranes were then incubated with the goat anti-rabbit peroxidase-conjugated antibody diluted at 1:2,000 in TBS buffer with 0.5% nonfat dry milk. The antibody-antigen complexes were detected by chemiluminescence using CovalAb detection kit. The protein loading was checked by reprobing the blot with a rabbit IgG anti-actin antibody (1:500).

Data analysis

Data are expressed as the mean \pm SD. Three to seven animals from different litters were used. For statistical analysis of data generated in *in vivo* and *in vitro* models an one way analysis of variance (ANOVA) was performed to determine whether there were differences between all groups ($P < 0.05$) and then the Bonferroni post-test was performed to determine the significance of the differences between the pair of groups. A P value below 0.05 was considered significant. The statistical tests were performed on StatView software version 5.0 (SAS institute Inc, Cary, NC).

RESULTS

Effects of in utero exposure to flutamide on Sertoli cell activity in adult germ cell survival.

As (i) fetal androgen disruption induced a long-term apoptosis in adult germ cell characterized by caspase-3 activation in spermatocytes and spermatids (Omezzine *et al.*, 2003) and (ii) Sertoli cells are targeted by androgens in the adult seminiferous tubules, we addressed the question as to whether the increased adult germ cell death might be related to altered Sertoli cell activity. For this purpose, purified post-natal Sertoli cells from rat testes exposed in utero to 10 mg/kg•d of flutamide were co-cultured with adult purified germ cells (i.e. spermatocytes or spermatids) not treated with flutamide. While active caspase-3 levels were not affected in Sertoli cells isolated from testes treated in utero with flutamide and cultured alone compared to Sertoli cells originating from control testes (Fig. 1A), increased active caspase-3 levels were detected in spermatocytes (Fig. 1B, $P<0.0001$) or spermatids (Fig. 1C, $P=0.037$) when co-cultured with Sertoli cells treated in utero with the anti-hormone (10 mg/kg/day). Together, these observations would suggest a possible alteration in the functions of (flutamide-treated) Sertoli cells related to their role in promoting adult germ cell survival.

Effects of fetal androgen disruption on androgen signal in the adult animals.

As the germ cell survival has been linked to androgen action which is mainly exerted through Sertoli cells (De Gendt *et al.*, 2004, Tan *et al.*, 2005), we therefore next addressed the question as to whether the long-term apoptosis observed in germ cells might be related to alterations in the androgen signal in the adult animals. The androgen signal could be evaluated, at least, through three components including the plasma levels of testosterone and its metabolite estradiol, the number of Sertoli cells which are targeted by androgens in the adult seminiferous tubules and AR expression. Firstly, fetal androgen disruption following an in utero treatment with flutamide (0.4, 2, and 10 mg/kg per day) was shown to be with no effect on the plasma levels of hormones including testosterone, estradiol and gonadotropins FSH and LH in adult animals (table 2). Secondly, with regard to the number of somatic cells targeted by androgens, while a slight increase in Leydig cell number ($P=0.03$, Fig. 2A), no change in Sertoli number (Fig. 2B) was observed in adult rat testes treated in utero with flutamide. It is noteworthy that the testicular weight is not affected by the anti-androgen treatment at the doses used here (Fig. 2C, see also (Bozec *et al.*, 2004). Thirdly, concerning the AR, immuno-histochemical experiments revealed that AR nuclear staining occurred, as expected, in Sertoli, peritubular myoïd and Leydig cells from adult rat testes (Fig. 3A). Fetal treatment by the anti-hormone flutamide (10 mg/kg•d)

did not affect AR immuno-localization in the adult rat testes (Fig. 3B). Interestingly, AR expression remained unaffected in the adult testis fetally treated by the anti-androgen, as evaluated through mRNA (Fig. 3C) and protein levels (Fig. 3D). Altogether, the data obtained suggest that the altered Sertoli cell activity leading to increased adult germ cell apoptotic process (Fig. 1) appears not to be directly linked to the androgen signal including plasma hormone levels, Sertoli cell number and AR expression.

Effects of in utero exposure to flutamide on Sertoli cell gene expression

As the germ cell death process specifically affects adult germ cells (spermatocytes and spermatids), we hypothesized that the potential alterations in Sertoli cell functions in terms of protecting adult germ cells against death might be related to a possible lack of Sertoli cell maturation. To test such a hypothesis, we evaluated the levels of several transcripts reported to be specifically present in adult Sertoli cells (O'Shaughnessy *et al.*, 2003): AMH type II receptor, CoxI, Cathepsin L, cystatin SC and TE, cyclin D2 and GST α . To study gene expression in this model, relatively low doses of the anti-androgen were chosen to avoid or minimize important germ cell loss i.e. before the occurrence of major histological lesions. Indeed, alterations in testicular cellularity (i.e. the ratio of somatic cells to germ cells) may confound the interpretation of the effects of the anti-androgen on gene expression in the different testicular cell types including in Sertoli cells (for references see, Ivell & Spiess, 2002).

In utero flutamide treatment (10 mg/kg•d) resulted in a decrease in AMH type II receptor (Fig. 4A; $P=0.0021$), Cathepsin L (Fig. 4B; $P=0.0029$), CoxI (Fig. 4C; $P=0.0017$) and cyclin D2 (Fig. 4D; $P=0.0055$) mRNA levels. In contrast, cystatin TE (Fig. 4E) and SC (Fig. 4F) mRNA levels were not affected.

In addition to these different genes expressed in somatic testicular cells, we have further focused on GST α expression. This gene is expressed in both Leydig and Sertoli cells (Benbrahim-Tallaa *et al.*, 2002b) and was reported to be under the control of androgens in Sertoli cells (Benbrahim-Tallaa *et al.*, 2002b). In utero flutamide treatment resulted in a decrease in GST α mRNA levels in seminiferous tubules with a significant decrease observed at 2 ($P=0.01$) and 10 ($P=0.001$) mg/kg•d of flutamide (Fig. 5A). The decrease in GST α mRNA levels was associated with a parallel decrease in GST α protein levels in the seminiferous tubules (Fig. 5B). Such a decrease in GST α protein levels was further confirmed in cultured Sertoli cells isolated from rats exposed in utero to flutamide ($P=0.0006$ Fig. 5C).

DISCUSSION

Fetal androgen disruption induces in adult male rat offspring a long-term apoptosis in testicular germ cells (Anway *et al.*, 2005, Bozec *et al.*, 2004, Florin *et al.*, 2005, Omezzine *et al.*, 2003, Uzumcu *et al.*, 2004) particularly at the level of stages VII-VII androgen-dependent seminiferous tubules (Bozec *et al.*, 2004). However, the underlying cellular and molecular machinery involved in the germ cell death still remains to be investigated. As in the adult seminiferous tubules, it is Sertoli cells that are primarily targeted by the androgens, we have further addressed the question as to whether the long-term germ cell death process might be related to altered Sertoli cell functions. The increased activation in caspase-3 in spermatocytes or spermatids when co-cultured with Sertoli cells originating from testes with a fetal androgen disruption, clearly supports the existence of possible alterations in the functions of Sertoli cell related to their promoting role in germ cell survival. As the adult germ cell death process has been linked to altered androgen action exerted through Sertoli cells (De Gendt *et al.*, 2004, Tan *et al.*, 2005), one should consider, at least, three possible mechanisms that could affect Sertoli cell response to androgens leading to germ cell death (i) Sertoli cell number, (ii) androgen signal including plasma hormone levels and AR expression/activity and (iii) Sertoli cell androgen-dependent transcriptional machinery. Although the long-term germ cell apoptosis in the adult animals exposed in utero to flutamide could be linked to an altered androgen signal, we found no modification in the plasma hormonal balance, in the number of Sertoli cells and in AR expression suggesting that the androgen signal is compromised at a receptor or post-receptor level, particularly at the level of the androgen targeted transcription machinery. However, concerning AR there are at least two aspects that should be discussed. Firstly, with regard to testicular AR localization, while in the adult testes, AR is expressed in the different somatic cells (i.e. Leydig, Sertoli and peritubular myoid cells), in the fetal testes, i.e. at the time when the androgen disruption occurs through exposure to flutamide, AR is expressed in the interstitial (Leydig) and peritubular myoid cells but not in Sertoli cells (You & Sar, 1998). These observations would suggest that alterations of adult Sertoli cell functions following androgen disruption should be taken into the context of the interactions between peritubular myoid cells and Sertoli cells. Secondly, although AR expression appears not to be affected in the adult testis, its activity might be compromised at a post-receptor i.e. at AR co-factor expression and/or recruitment levels or at androgen-dependent gene transcriptional activity level. Indeed, AR activity could be reduced in view of recent findings showing that in utero treatment to anti-androgens resulted in the adult testes in a decrease in Smad3 and an increase in p-c-jun protein levels (Maire *et al.*, 2005),

which represent AR co-activator (Kang *et al.*, 2001) and AR co-repressor (Sato *et al.*, 1997), respectively. Although the alterations of AR activity in terms of changes in the balance between AR co-activators and co-repressors clearly support alterations at the level of the androgen-dependent transcriptional machinery, the Sertoli cell androgen targeted genes whose expression is specifically involved in adult germ cell death remain yet to be identified. However, as the germ cell death process specifically affects adult germ cells, we hypothesized that the inability of Sertoli cells to protect adult germ cells against apoptosis might be related to an alteration of Sertoli cell maturation process. For this purpose, we have tested the possibility as to whether in utero exposure to the anti-androgen may affect the expression of several genes normally express in adult Sertoli cells. Most of the genes expressed in Sertoli cells have been selected according to their differentiated expression in adult Sertoli cells (O'Shaughnessy *et al.*, 2003). Interestingly, the expression of these genes including AMHR2, cyclinD2, CathepsinL, Cox1 and GST α was found to be downregulated in adult testes exposed in utero to the antiandrogen flutamide. This altered pattern of expression may suggest that following fetal androgen disruption, Sertoli cells remained in a relative immature state. Such a relative lack of Sertoli cell maturation may explain the loss of their protective role in terms of germ cell survival. However, there are still two points that need more clarification. Firstly, the relative alteration of Sertoli cell maturation needs still to be confirmed by using approaches related to "omic" genome wide approaches. Secondly, while we suggest that the decrease in adult Sertoli cell gene expression leading to this potential lack of Sertoli cell maturation may result in increased germ cell death, it still remains to identify adult Sertoli cell androgen targeted genes whose altered expression may directly affect germ cell survival. Among these Sertoli cell genes, GST α is a detoxification enzyme that protects the adult testicular germ cells against apoptosis (Rao & Shaha, 2000) by decreasing the cytotoxic effects of oxidants (Yang *et al.*, 2001). As such, the decrease in GST α levels in adult Sertoli cells could represent also one of the possible mechanisms supporting the long-term apoptosis in germ cells from animals exposed in utero to anti-androgen. This could impair the Sertoli – germ cell interactions leading to a long-term apoptosis of germ cells.

Although we do not know the mechanisms underlying the long-term inhibition of Sertoli cell transcripts it is possible that the alterations of their expression in the adult rat testes might be related to some epigenetic changes involving for example the methylation/acetylation pattern of the androgen-dependent gene promoters, as yet suggested for example for lactotransferrin (Li *et al.*, 1997) and c-fos (Li *et al.*, 2003) in adult uterine mice tissues from neonatally-treated animals with

diethylstilbestrol (Ruden *et al.*, 2005) and more recently for phosphodiesterase type 4 in adult rat prostate neonatally exposed to estradiol (Ho *et al.*, 2006).

In summary, we showed here that fetal androgen disruption induced a long-term alteration of Sertoli cell functions which may result in a long term increased adult germ cell death process in the context of Sertoli cell – germ cell interactions.

ACKNOWLEDGMENTS: This study has been carried out with the financial support from the French Institute for Health and Medical Research (INSERM Unité 407), BayerCropScience and the Ministère de l' Education Nationale de la Recherche et de la Technologie (MENRT) (Ciffre doctoral grant to BS and doctoral grant to AB from MENRT), the Commission of the European Communities, specific RTD programme and "Quality of Life and Management of Living Resources," QLK4-2000-00684 ENDISRUPT and University Claude Bernard Lyon I.

REFERENCES

- Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M & Skinner MK 2005 Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* **308** 1466-1469.
- Benbrahim-Tallaa L, Boussouar F, Rey C & Benahmed M 2002a Tumor necrosis factor-alpha inhibits glutathione S-transferase-alpha expression in cultured porcine Sertoli cells. *Journal of Endocrinology* **175** 803-812.
- Benbrahim-Tallaa L, Tabone E, Tosser-Klopp G, Hatey F & Benahmed M 2002b Glutathione S-transferase alpha expressed in porcine Sertoli cells is under the control of follicle-stimulating hormone and testosterone. *Biology of Reproduction* **66** 1734-1742.
- Boussouar F, Mauduit C, Tabone E, Pellerin L, Magistretti PJ & Benahmed M 2003 Developmental and hormonal regulation of the monocarboxylate transporter 2 (MCT2) expression in the mouse germ cells. *Biology of Reproduction* **69** 1069-1078.
- Bozec A, Chuzel F, Chater S, Paulin C, Bars R, Benahmed M & Mauduit C 2004 The mitochondrial-dependent pathway is chronically affected in testicular germ cell death in adult rats exposed in utero to anti-androgens. *Journal of Endocrinology* **183** 79-90.
- Crews D & McLachlan JA 2006 Epigenetics, evolution, endocrine disruption, health, and disease. *Endocrinology* **147** S4-10.
- De Gendt K, Swinnen JV, Saunders PT, Schoonjans L, Dewerchin M, Devos A, Tan K, Atanassova N, Claessens F, Lecureuil C *et al.* 2004 A Sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor causes spermatogenic arrest in meiosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* **101** 1327-1332.
- Florin A, Maire M, Bozec A, Hellani A, Chater S, Bars R, Chuzel F & Benahmed M 2005 Androgens and Post-Meiotic Germ Cells Regulate Claudin-11 Expression in Rat Sertoli Cells. *Endocrinology* **146** 1532-1540.
- Goddard I, Florin A, Mauduit C, Tabone E, Contard P, Bars R, Chuzel F & Benahmed M 2003 Alteration of lactate production and transport in the adult rat testis exposed in utero to flutamide. *Molecular and Cellular Endocrinology* **206** 137-146.
- Ho SM, Tang WY, Belmonte de Frausto J & Prins GS 2006 Developmental exposure to estradiol and bisphenol a increases susceptibility to prostate carcinogenesis and epigenetically regulates phosphodiesterase type 4 variant 4. *Cancer Research* **66** 5624-5632.
- Ivell R & Spiess A-N 2002 Analysing differential gene expression in the testis. In *Testicular tangrams*, pp 99-120, edn. Ed. Eds FF Rommerts & KJ Teerds. Berlin: Springer.
- Kang HY, Lin HK, Hu YC, Yeh S, Huang KE & Chang C 2001 From transforming growth factor-beta signaling to androgen action: identification of Smad3 as an androgen receptor coregulator in prostate cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **98** 3018-3023.
- Li S, Hansman R, Newbold R, Davis B, McLachlan JA & Barrett JC 2003 Neonatal diethylstilbestrol exposure induces persistent elevation of c-fos expression and hypomethylation in its exon-4 in mouse uterus. *Mol Carcinog* **38** 78-84.
- Li S, Washburn KA, Moore R, Uno T, Teng C, Newbold RR, McLachlan JA & Negishi M 1997 Developmental exposure to diethylstilbestrol elicits demethylation of estrogen-responsive lactoferrin gene in mouse uterus. *Cancer Research* **57** 4356-4359.
- Maire M, Florin A, Kaszas K, Regnier D, Contard P, Tabone E, Mauduit C, Bars R & Benahmed M 2005 Alteration of transforming growth factor-beta signaling system expression in adult rat germ cells with a chronic apoptotic cell death process after fetal androgen disruption. *Endocrinology* **146** 5135-5143.

- Mehta R, Davis HG, Laver GW, Rowsell PR & Bondy GS 1994 Glutathione S-transferases and P-glycoprotein in normal rat hepatocytes and hepatoma cells: analysis using flow cytometry. *Cancer Lett* **84** 163-172.
- Murray GI, Taylor VE, McKay JA, Weaver RJ, Ewen SW, Melvin WT & Burke MD 1995 The immunohistochemical localization of drug-metabolizing enzymes in prostate cancer. *Journal of Pathology* **177** 147-152.
- Newbold RR, Padilla-Banks E & Jefferson WN 2006 Adverse effects of the model environmental estrogen diethylstilbestrol are transmitted to subsequent generations. *Endocrinology* **147** S11-17.
- O'Shaughnessy PJ, Fleming L, Baker PJ, Jackson G & Johnston H 2003 Identification of developmentally regulated genes in the somatic cells of the mouse testis using serial analysis of gene expression. *Biology of Reproduction* **69** 797-808.
- Omezzine A, Chater S, Mauduit C, Florin A, Tabone E, Chuzel F, Bars R & Benahmed M 2003 Long-term apoptotic cell death process with increased expression and activation of caspase-3 and -6 in adult rat germ cells exposed in utero to flutamide. *Endocrinology* **144** 648-661.
- Rao AV & Shaha C 2000 Role of glutathione S-transferases in oxidative stress-induced male germ cell apoptosis. *Free Radic Biol Med* **29** 1015-1027.
- Ruden DM, Xiao L, Garfinkel MD & Lu X 2005 Hsp90 and environmental impacts on epigenetic states: a model for the trans-generational effects of diethylstilbestrol on uterine development and cancer. *Human Molecular Genetics* **14 Spec No 1** R149-155.
- Sato N, Sadar MD, Bruchofsky N, Saatcioglu F, Rennie PS, Sato S, Lange PH & Gleave ME 1997 Androgenic induction of prostate-specific antigen gene is repressed by protein-protein interaction between the androgen receptor and AP-1/c-Jun in the human prostate cancer cell line LNCaP. *Journal of Biological Chemistry* **272** 17485-17494.
- Sharpe RM, Walker M, Millar MR, Atanassova N, Morris K, McKinnell C, Saunders PT & Fraser HM 2000 Effect of neonatal gonadotropin-releasing hormone antagonist administration on sertoli cell number and testicular development in the marmoset: comparison with the rat. *Biology of Reproduction* **62** 1685-1693.
- Sharpe RM, Atanassova N, McKinnell C, Parte P, Turner KJ, Fisher JS, Kerr JB, Groome NP, Macpherson S, Millar MR *et al.* 1998 Abnormalities in functional development of the Sertoli cells in rats treated neonatally with diethylstilbestrol: a possible role for estrogens in Sertoli cell development. *Biology of Reproduction* **59** 1084-1094.
- Tan KA, De Gendt K, Atanassova N, Walker M, Sharpe RM, Saunders PT, Denolet E & Verhoeven G 2005 The role of androgens in sertoli cell proliferation and functional maturation: studies in mice with total or Sertoli cell-selective ablation of the androgen receptor. *Endocrinology* **146** 2674-2683.
- Uzumcu M, Suzuki H & Skinner MK 2004 Effect of the anti-androgenic endocrine disruptor vinclozolin on embryonic testis cord formation and postnatal testis development and function. *Reprod Toxicol* **18** 765-774.
- Wreford NG 1995 Theory and practice of stereological techniques applied to the estimation of cell number and nuclear volume in the testis. *Microsc Res Tech* **32** 423-436.
- Yang Y, Cheng JZ, Singhal SS, Saini M, Pandya U, Awasthi S & Awasthi YC 2001 Role of Glutathione S-Transferases in Protection against Lipid Peroxidation. Overexpression of hGSTa2-2 in k562 cells protects against hydrogen peroxide-induced apoptosis and inhibits JNK and caspase 3 activation. *Journal of Biological Chemistry* **276** 19220-19230.
- You L & Sar M 1998 Androgen receptor expression in the testes and epididymides of prenatal and postnatal Sprague-Dawley rats. *Endocrine* **9** 253-261.

FIGURE LEGENDS

FIG. 1. Effects of in utero treatment with flutamide on cleaved caspase-3 protein levels in Sertoli cell-germ cell co-cultures.

Cleaved caspase-3 protein levels were determined in Sertoli cell isolated from rat untreated (0) or treated (10) in utero with flutamide (10 mg/kg•d) and cultured either alone (A) or in the presence of spermatocytes (B) or spermatids (C) purified from adult untreated rats. Representative autoradiograms and histograms were shown in the upper and lower panel, respectively. The experiment was carried out at least 3 times.

FIG. 2. Morphological parameters in 90 day-old rats treated in utero by flutamide.

(A) Leydig or (B) Sertoli cell number per mg of testis was evaluated in 90 day-old rats, which were untreated (0) or treated (10) in utero with 10 mg/kg•d of flutamide. (C) Testicular weight was evaluated in 90 day-old rats, which were untreated (0) or treated in utero with 0.4, 2 or 10 mg/kg•d of flutamide. The data are obtained from 10 different animals per condition.

FIG. 3. Androgen receptor expression in the rat testes treated in utero with flutamide.

Testes were obtained from 90-day-old untreated rats (A) or rats treated in utero with flutamide (B) 10 mg/kg•d. Immunohistochemistry experiments were carried out with antibodies directed against AR; scale bar = 50 μ m. Androgen receptor (AR) levels were determined in adult (90 day-old) rat testes untreated (0) or treated in utero with 0.4, 2 or 10 mg/kg•d of flutamide through (C) mRNA levels and through (D) protein levels. AR protein is evidenced as a band about 112 kDa and actin protein is evidenced as a band about 40 kDa. Representative autoradiograms and histograms are shown in the upper and lower panel, respectively. Data are obtained from 7 animals (per condition) originating from at least 3 different litters.

FIG. 4. mRNA levels of Sertoli cell genes in the testes from rats treated in utero by flutamide.

mRNA levels for AMH receptor type II (A), Cathepsin L (B), Cox1 (C), cyclin D2 (D), cystatin TE (E) or cystatin SC (F) were determined in the testes from 90-day-old rats untreated (0) or treated (10) in utero with flutamide (10 mg/kg•d) by RT-PCR. The data are obtained from 10 different animals per condition.

FIG. 5. Effects of in utero treatment with flutamide on GST α mRNA and protein levels in rat testicular seminiferous tubules.

Rats were treated in utero with increasing doses of flutamide (0, 0.4, 2 and 10 mg/kg•d). Representative autoradiograms and histograms were shown in the upper and lower panel, respectively. Evaluation of GST α mRNA (A) and protein (B) were realized on seminiferous tubules. (C) GST α protein levels were determined in Sertoli cells isolated from rat untreated (0) or treated (10) in utero with flutamide (10 mg/kg•d). The data are obtained from 7 to 10 different animals per condition.

Table 1: Primer list and PCR conditions

Primer name	Primer sequence	Hybridization temperature (°C)	Amplicon size (bp)
Androgen receptor	ATTGTCCATCGTGTCGTCTCCG GAGTTGACATTAGTGAAGGACC	60	447
HPRT	CCTGCTGGATTACATTAAGC GTCAAGGGCATATCCAACAAC		354
CoxI	CGAAGCAAGCTATGATGGCGAATA ATGTAGACACCCGAGCCTACTTTA	62	288
Cystatin TE	ACCCTCTAGAGGAAAGG GAGATCGACAAGAATGAAGAGGAG	62	370
Cathepsin L	TTTACAAGATCCATCCTTTGCTTC CCCCAAGACTGTGGACTGGAGAGA	62	295
AMH-R2	AGCAATGGCTGTAGAGGCAG GGGTAGCTGTGCTGGTGTGT	62	228
Cystatin SC	GTGGCATCAGTAGAGTTTGCTGTGG GCATTAGCACACACAGACCTTGG	58	378
βactine	TTGCTGATCCACATCTGCTG GACAGGATGCAGAAGGAGAT		146
GST A2	GGACGTCCACCTGCTGGAAC TGGCTCCATCAATGCAGCCA	60	224
Cyclin D2	CGATGATTGCAACTGGAAGC TTCAGCAGCAGAGCTTCGAT	58	169

Table 2. Plasma hormonal status of adult rats treated in utero with flutamide.

Dose (mg/kg per day)	Flutamide (mg/kg•d)			
	0	0.4	2	10
Testosterone (ng/ml)	4.52 ± 2.18	3.64 ± 2.60 ^{NS}	4.41 ± 3.71 ^{NS}	3.24 ± 1.71 ^{NS}
LH (ng/ml)	0.785 ± 0.290	0.705 ± 0.212 ^{NS}	0.675 ± 0.118 ^{NS}	0.579 ± 0.25 ^{NS}
FSH (ng/ml)	21.20 ± 4.53	21.84 ± 5.24 ^{NS}	19.44 ± 3.82 ^{NS}	21.33 ± 7.28 ^{NS}
Estradiol (ng/ml)	22.89 ± 4.99	21.87 ± 3.30 ^{NS}	24.11 ± 5.36 ^{NS}	19.97 ± 3.57 ^{NS}

Testosterone, LH, FSH and estradiol plasma levels were evaluated by using specific RIA assay. Data are obtained from 16 animals from 8 litters and are expressed as the means ± SEM. NS, not significant (control (0) versus the different doses of flutamide).

FIG. 1. Effects of in utero treatment with flutamide on cleaved caspase-3 protein levels in Sertoli cell-germ cell co-cultures.

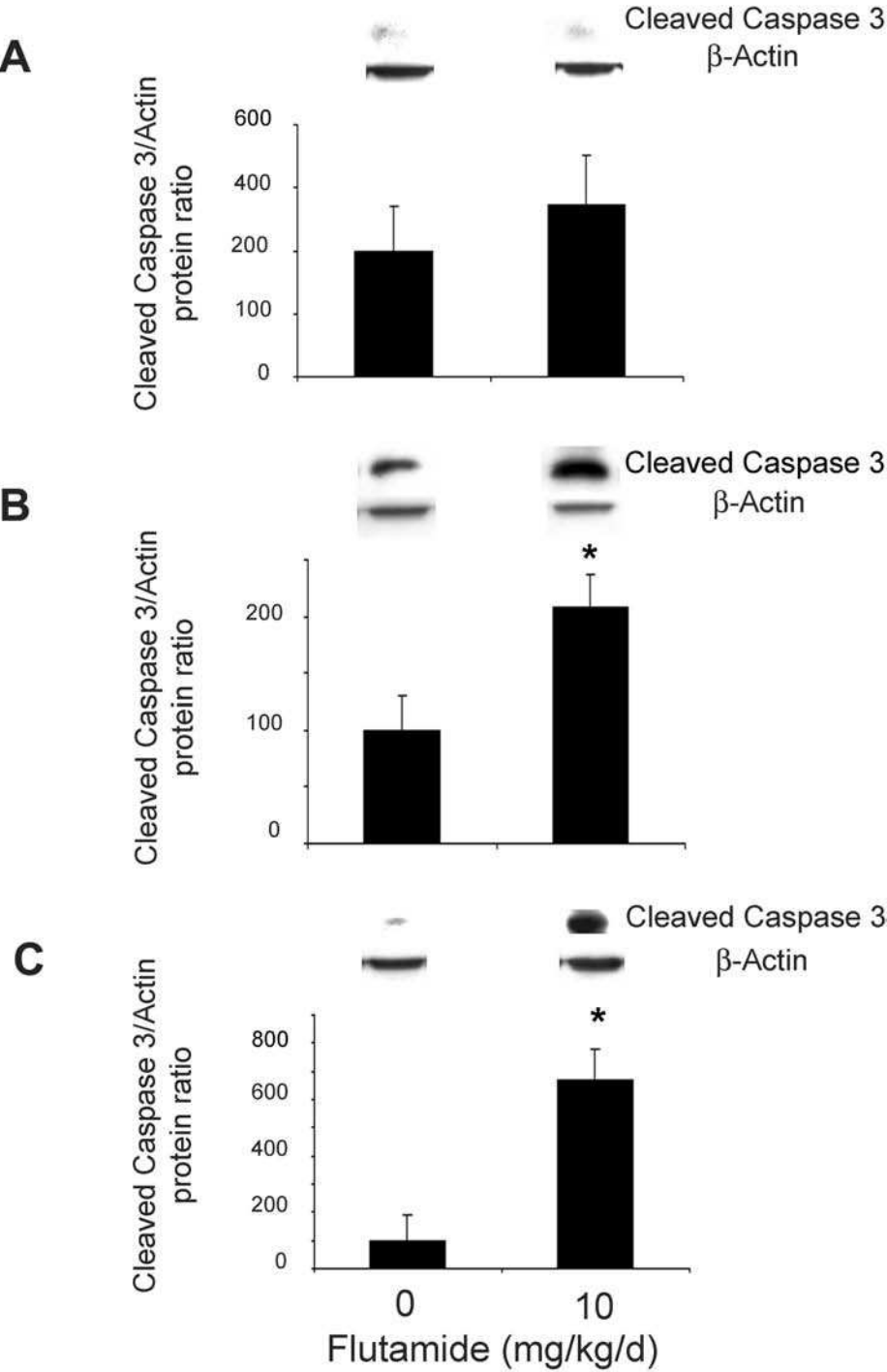


FIG. 2. Morphological parameters in 90 day-old rats treated in utero by flutamide.

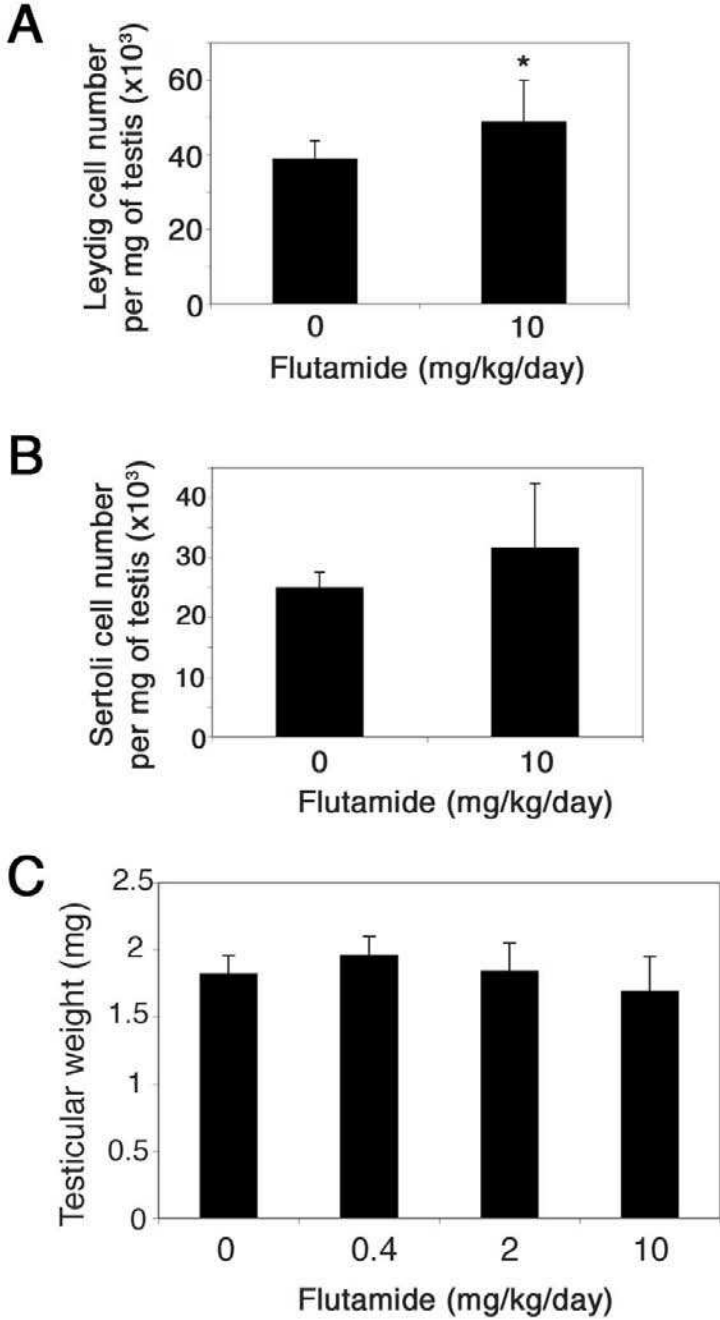


FIG. 3. Androgen receptor expression in the rat testes treated in utero with flutamide.

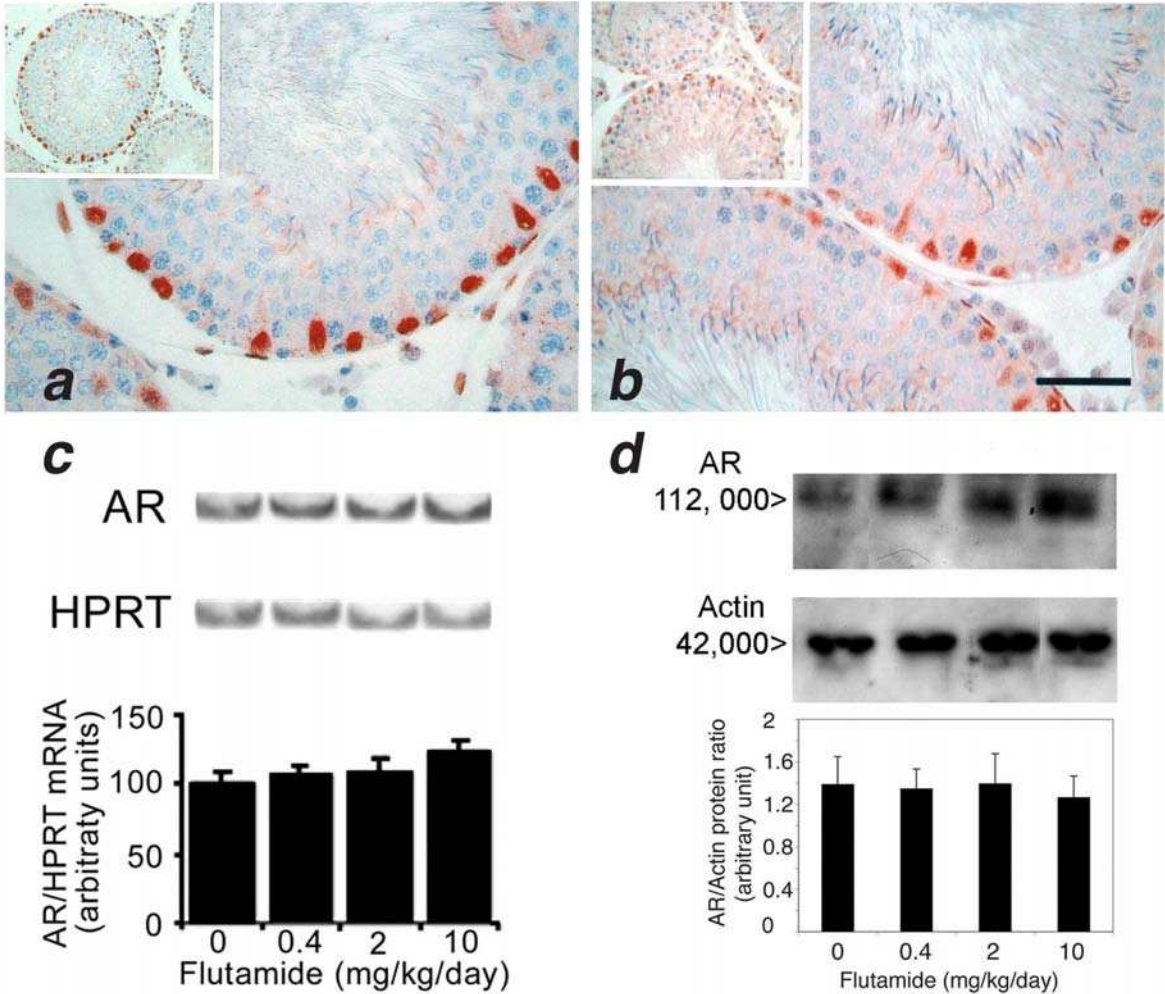


FIG. 4. mRNA levels of Sertoli cell genes in the testes from rats treated in utero by flutamide.

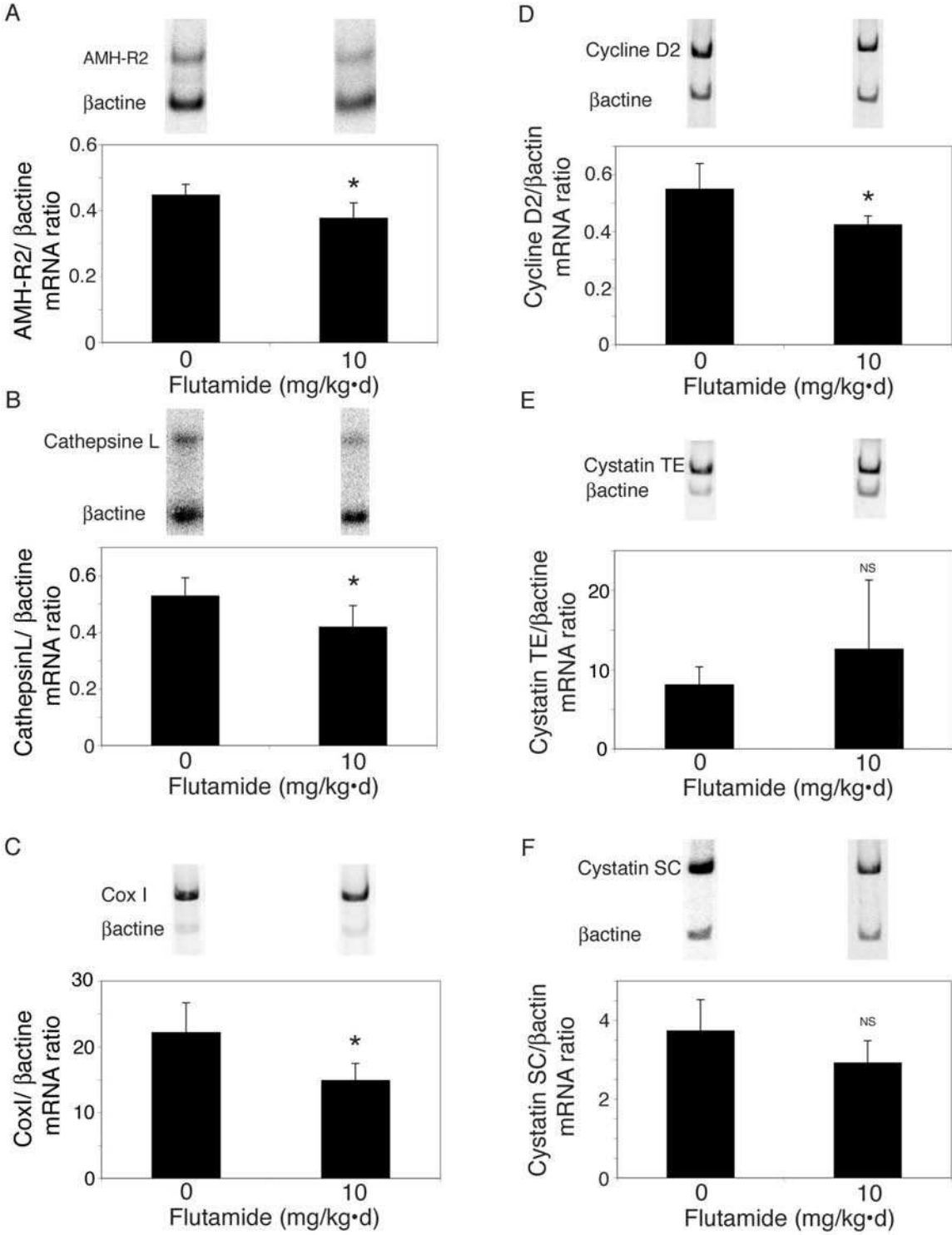
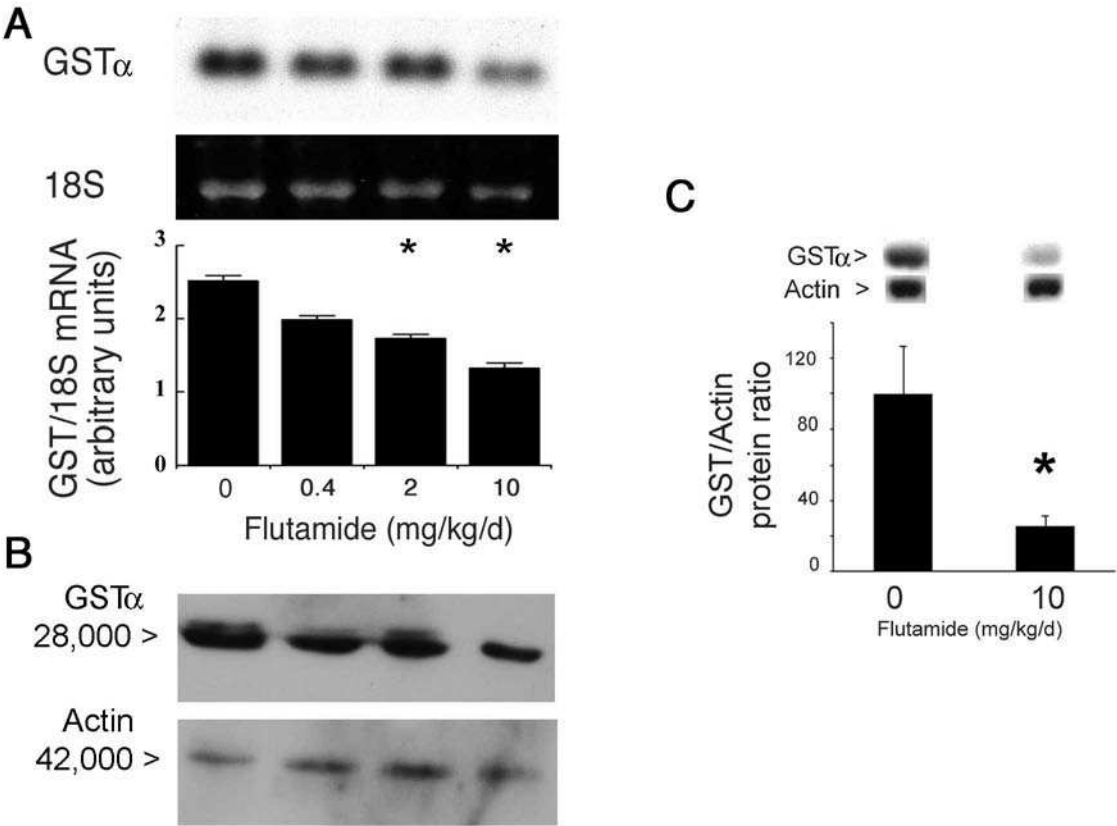


FIG. 5. Effects of in utero treatment with flutamide on GST α mRNA and protein levels in rat testicular seminiferous tubules.



3.2 Protéome Testiculaire

En appliquant l'outil protéomique, électrophorèse bidimensionnelle, sur le testicule de rats issu de diverses études de toxicologie (FM et autres composés) effectuées au sein de notre équipe, nous avons pu collecter de nombreuses données nécessaires à l'élaboration d'une base de données correspondant au « protéome testiculaire ».

Ainsi, les coordonnées des différents spots et les noms des protéines identifiées dans les différentes études, nous ont permis de localiser un certain nombre de ces protéines sur un gel bidimensionnel (pH 5-8) représentatif du testicule de rat contrôle. La [figure 51](#) représente une carte bidimensionnelle des protéines testiculaires de rat Sprague-Dawley adulte.

L'intérêt de ce protéome est d'éviter l'identification par spectrométrie de masse de protéines d'intérêt qui auraient déjà été identifiées lors de précédentes études. Ainsi, la comparaison d'un profil protéique testiculaire, révélant la modulation d'un certain nombre de protéines, avec cette carte bidimensionnelle permet l'identification de protéines sans avoir à prélever de spots, ni à faire une analyse par spectrométrie de masse. Cette approche d'identification « par comparaison » présente l'avantage d'apporter rapidement des informations, telles que le nom de la protéine, sa fonction, etc..., pour un certain nombre de protéines modulées par un traitement x, mais également de réduire les coûts associés à l'analyse par spectrométrie de masse de l'ensemble des protéines modulées.

Cette méthode d'identification « par comparaison » a été validée de plusieurs façons. Des spots modulés et identifiés par spectrométrie de masse dans une étude A, également retrouvés modulés dans une étude B, ont été identifiés en aveugle par spectrométrie de masse. Des résultats similaires (numéro d'accèsion, nom de la protéine) ont été obtenus pour toutes ces identifications. De plus ces identifications de mêmes spots issus d'études, et donc de gels bidimensionnels différents, ont été menées soit par la même technique d'analyse (MALDI-ToF/MS) ou par 2 techniques différentes (MALDI-ToF/MS et ESI-MS/MS).

La [table e](#), (annexe, p 71), récapitule l'ensemble des protéines identifiées au cours de différentes études menées par notre équipe.

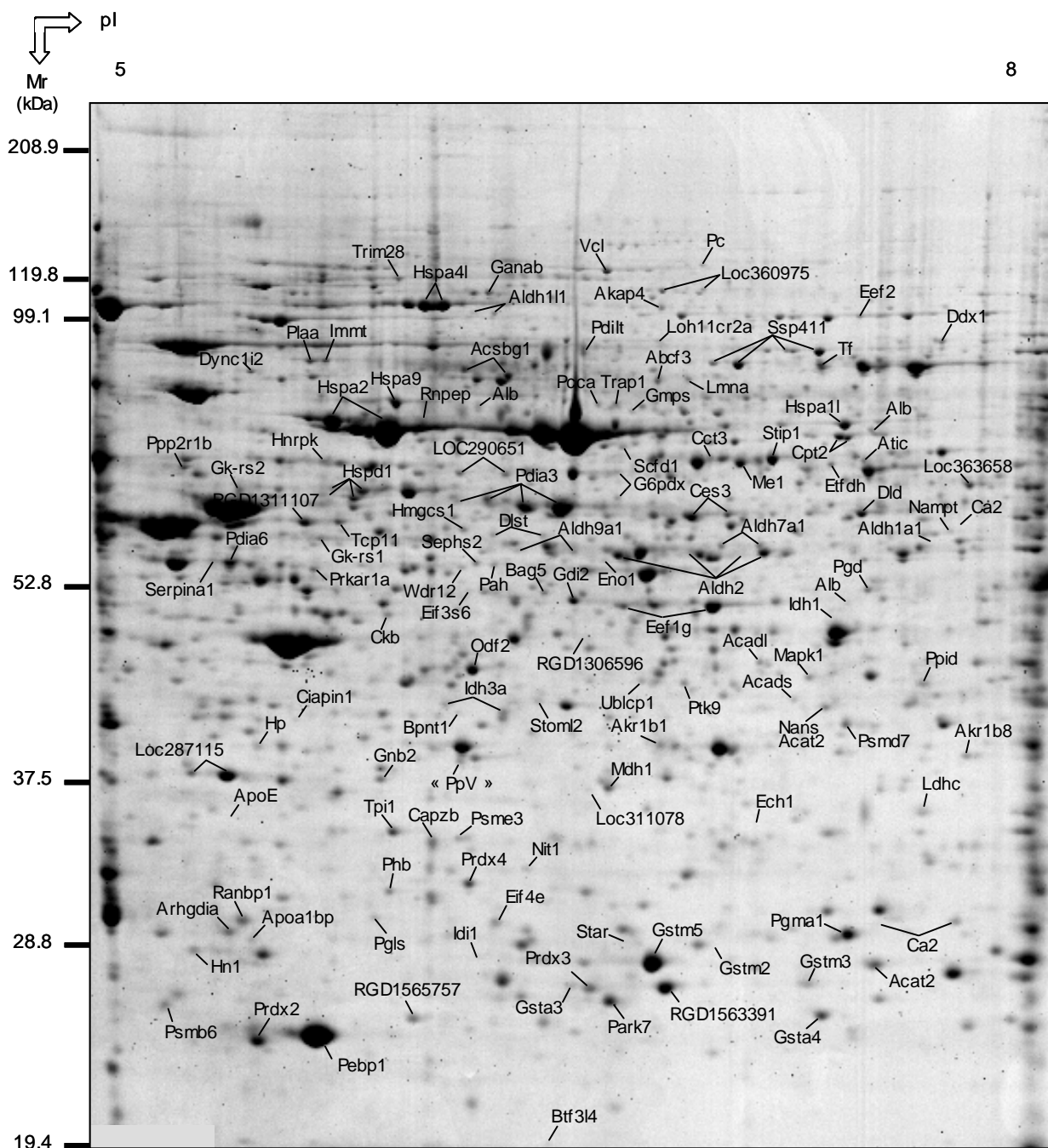


Figure 51: Carte 2-DE de référence des protéines testiculaires de rat

Les protéines testiculaires d'un rat contrôlé (400 µg chargées) sont séparées successivement par IEF (IPG strips, 17 cm, pH5-8) et par SDS-PAGE (gels 10%). Les protéines sont visualisées par coloration au Bleu de Coomassie, puis identifiées par MALDI-ToF et/ou ESI-MS/MS. Les protéines sont localisées sur le gel par leur nom de gène.

❧ **DISCUSSION & PERSPECTIVES** ❧

∞ DISCUSSION & PERSPECTIVES ∞

A l'heure actuelle, les effets pharmacologiques et toxiques de l'antiandrogène FM sur l'appareil reproducteur mâle sont bien caractérisés chez le rat adulte et décrits dans la littérature (Okahara *et al.* 2000; Toyoda *et al.* 2000; Andrews *et al.* 2001; Kunimatsu *et al.* 2004). Par contre, le mécanisme d'action, par lequel le FM induit des effets toxiques sur l'appareil reproducteur mâle est encore mal défini. Ainsi, l'objectif de ce travail était d'essayer de mieux comprendre comment le FM induit au niveau moléculaire des effets délétères sur le testicule, en utilisant de nouvelles approches « -omiques » jusqu'alors peu utilisées dans des études de toxicologie conventionnelles et développées au cours de ce travail.

L'étude sub-aigüe de 28 jours, menée une selon la ligne directrice 407 améliorée de l'OCDE (www.oecd.org), nous a tout d'abord permis de confirmer, par des analyses conventionnelles de toxicologie, l'activité antiandrogénique du FM sur l'appareil reproducteur mâle. En effet, nous avons constaté une diminution significative du poids de nombreux organes et tissus sexuels accessoires (prostate, épидидyme, vésicules séminales), connus pour être androgéno-dépendants. De plus, nous avons observé une augmentation caractéristique du niveau de LH et de testostérone plasmatiques. L'analyse microscopique du testicule a également révélé une hyperplasie des cellules de Leydig.

Ayant confirmé l'effet antiandrogénique du FM, nous avons effectué des analyses transcriptomique et protéomique sur les testicules de ces rats adultes traités au FM pendant 28 jours afin de tenter de mieux comprendre le mécanisme d'action, au niveau moléculaire, de cet antiandrogène sur les fonctions testiculaires.

Par ces nouvelles approches « -omiques » nous avons montré que le FM est capable de moduler le niveau d'accumulation de nombreux transcrits et protéines participant à de nombreux processus biologiques, et parmi lesquels peu ont été décrits comme étant exprimés au niveau du testicule et/ou régulés par les androgènes.

Les analyses transcriptomique et protéomique ont révélé la modulation du niveau d'accumulation de nombreux transcrits et protéines impliqués dans la voie de biosynthèse des stéroïdes. La synthèse de la testostérone par les cellules de Leydig, site de production majeur de cet androgène, est sous le contrôle de la LH (Payne and O'Shaughnessy 1996) mais également sous son propre recontrôle autocrine (O'Shaughnessy *et al.* 2002). Le FM apparaît être capable d'affecter directement l'expression de certaines enzymes participant à la synthèse de la testostérone au niveau du testicule. L'expression des enzymes Cyp17a1 et Hsd3b1, enzymes clés de la voie de biosynthèse des stéroïdes, est décrite comme étant

régulée négativement par la testostérone (Stalvey and Clavey 1992; Burgos-Trinidad *et al.* 1997). Or, l'augmentation du niveau d'accumulation de tels transcrits dans notre étude, en présence d'une concentration importante de testostérone plasmatique, confirme la capacité du FM à antagoniser la liaison de la testostérone à son récepteur, empêchant ainsi la liaison du AR à l'ADN et l'inhibition de la transcription de ces gènes androgéno-dépendants par le RA. De plus, le fait d'observer la modulation de gènes connus pour être régulés par la LH (O'Shaughnessy and Payne 1982), ainsi qu'une augmentation du niveau de LH plasmatique, confirme l'action antagoniste du FM sur les AR présents au niveau de la structure hypophyse/hypothalamus, bloquant le rétrocontrôle négatif de la testostérone (Viguié-Martinez *et al.* 1983) et induisant la sécrétion de cette hormone par l'hypophyse. L'augmentation de la LH induirait alors à son tour l'activation de l'expression des gènes stéroïdogéniques au niveau du testicule et donc la synthèse de la testostérone. La perturbation des mécanismes de sécrétion de la LH, stimulée de façon continue, ainsi que la modulation des processus de régulation des enzymes stéroïdogéniques au niveau du testicule, induit une expression accrue des enzymes participant à la voie de biosynthèse des stéroïdes et donc une augmentation du niveau de testostérone plasmatique. L'ensemble de ces données moléculaires démontre donc l'effet antiandrogénique du FM sur l'axe hypothalamus-hypophyse-testicule, et son implication dans l'induction de la sécrétion de la LH par l'hypophyse et de la testostérone par les cellules de Leydig. Les transcrits et protéines impliqués dans cette voie métabolique apparaissent, pour une grande majorité, être sur-accumulés suite à l'exposition au FM, et leurs profils d'accumulation ainsi que leurs nombres semblent augmenter de façon dose-dépendante. Ainsi nous avons montré l'existence d'une bonne corrélation des modulations des profils d'accumulation de nombreux transcrits et protéines sur-accumulés suite au traitement FM avec l'augmentation dose-dépendante du niveau de testostérone plasmatique mesurée chez les animaux traités quotidiennement aux 3 niveaux de dose de FM pendant 28 jours.

Par ailleurs, de nombreux transcrits et quelques protéines potentiellement impliqués dans le phénomène d'hyperplasie des cellules de Leydig, observés après 28 jours de traitement, apparaissent être modulés par le FM. En effet, ce phénomène de prolifération cellulaire semble être dû à la stimulation des cellules de Leydig par la LH et/ou par divers facteurs qui agiraient de manière paracrine ou autocrine sur ces cellules (Teerds *et al.* 1999; Sriraman *et al.* 2005). D'après les profils d'accumulation obtenus, on peut supposer que le FM est capable de moduler les processus de régulation de la prolifération des cellules de Leydig par le biais de l'induction de la sécrétion de la LH au niveau de la structure hypophyse/hypothalamus, et/ou d'un certain nombre de facteurs capables d'agir sur les cellules de Leydig et de moduler leur activité proliférative. Néanmoins, l'implication de ces facteurs dans ce phénomène d'hyperplasie des cellules de Leydig nécessite des analyses

complémentaires afin de comprendre leurs véritables rôles dans le processus de prolifération. Ainsi ces données pourraient éventuellement amener de nouveaux éléments dans la compréhension des processus de différenciation et de prolifération des cellules de Leydig aujourd'hui encore mal définis.

Les deux phénomènes majeurs caractéristiques induits par le FM, à savoir l'augmentation du niveau de testostérone plasmatique et l'hyperplasie des cellules de Leydig, observés par des approches conventionnelles, ont pu être confirmés au niveau moléculaire par la modulation du niveau d'accumulation de nombreux transcrits et protéines impliqués dans les voies de biosynthèse de la testostérone et dans les processus de prolifération cellulaire. De plus, l'augmentation du niveau de la LH et de la testostérone plasmatique, de l'incidence et de la sévérité de l'hyperplasie des cellules de Leydig, apparaît être dose-dépendante. Les analyses transcriptomique et protéomique révèlent également la capacité du FM à perturber de façon dose-dépendante le profil d'accumulation et le nombre de transcrits et protéines modulés, participant aux processus de biosynthèse des stéroïdes et de prolifération cellulaire.

La très bonne corrélation des résultats issus des analyses conventionnelles d'une part et des approches transcriptomique et protéomique d'autre part, nous a permis de renforcer la compréhension du mécanisme d'action, au niveau moléculaire, par lequel le FM induit certains de ces effets sur l'appareil reproducteur mâle, mais nous a également permis de développer et de valider ces nouvelles approches « -omiques » jusqu'alors très peu utilisées dans les études conventionnelles de toxicologie.

Dans cette étude de 28 jours, nous avons également constaté, à la faible dose de FM, la modulation du niveau d'accumulation de transcrits codant pour des protéines participant à l'étape de spermiogenèse. A cette même dose, nous n'avons constaté aucune altération histologique au niveau de l'épididyme. Par contre, chez certains animaux traités à la forte dose de FM, nous avons noté une augmentation du nombre de cellules germinales anormales et de débris dans l'épididyme, ainsi qu'une oligospermie marquée pour un des ces rats, résultats cohérents avec ceux rapportés dans la littérature. De nombreuses études ont montré le rôle indispensable des androgènes au bon déroulement de la spermatogenèse (McLachlan *et al.* 1994). La diminution du niveau de testostérone intratesticulaire (O'Donnell *et al.* 1996), l'invalidation du gène codant pour le AR dans les cellules de Sertoli (De Gendt *et al.* 2004), l'ablation de l'hypophyse ou la suppression des cellules de Leydig (Kerr *et al.* 1992), ont pour conséquence de perturber la spermatogenèse et d'altérer la production du sperme. L'administration d'antiandrogènes, et plus spécifiquement du FM chez le rat adulte, semble également affecter la spermatogenèse (Viguié-Martinez *et al.* 1983; Okahara *et al.*

2000; Omezzine *et al.* 2003). Plusieurs études décrivent l'effet du FM sur la spermatogenèse avec l'observation de phénomènes d'apoptose et de diminution du nombre de spermatocytes et de spermatides au sein de testicules d'animaux adultes traités au FM (Viguié-Martinez *et al.* 1983; Okahara *et al.* 2000), ainsi que de diminution du nombre de spermatozoïdes viables et d'augmentation de la fréquence de spermatozoïdes anormaux au niveau de l'épididyme de rats adultes traités à de fortes concentrations de FM (Okahara *et al.* 2000; Andrews *et al.* 2001; Kunimatsu *et al.* 2004). Cependant, les mécanismes par lesquels le FM perturbe la spermatogenèse sont à ce jour mal définis et peu d'études rapportées dans la littérature décrivent l'effet du FM, au niveau moléculaire, sur la spermatogenèse et la fertilité (Gye and Ohsako 2003; Anahara *et al.* 2004; Anahara *et al.* 2006a). Les modulations moléculaires observées dans notre étude sub-aiguë sont cohérentes avec ces quelques études publiées et doivent être considérées comme une piste d'investigation à approfondir pour tenter d'expliquer les phénomènes de perturbation de la spermatogenèse et de réduction de fertilité constatés chez certains animaux traités au FM.

Il est également intéressant de noter que dans cette étude de 28 jours en présence du FM, antiandrogène capable d'antagoniser la liaison de la testostérone à son RA et donc de perturber les effets endogènes de la testostérone, le niveau d'accumulation d'une majorité de transcrits et de protéines est augmenté. Cette tendance de sur-accumulation a déjà été décrite après la suppression d'androgènes endogènes (Petrusz *et al.* 2005) ou à la suite d'une administration d'antiandrogènes (Kubota *et al.* 2003; Ohsako *et al.* 2003). Nous avons constaté une régulation positive de nombreux transcrits et protéines participant aux processus de transcription et de traduction. On peut supposer que les différents types cellulaires composant le testicule nécessitent une synthèse *de novo* de nombreuses protéines afin de répondre à l'effet du FM. Ainsi, pour faire face à la non perception de la testostérone, on peut supposer que des mécanismes compensatoires se mettent éventuellement en place au niveau du testicule. Pour répondre à la demande accrue de testostérone par l'organisme, les cellules de Leydig nécessitent la synthèse de nombreuses enzymes stéroïdogéniques impliquées dans la biosynthèse de cet androgène. Au niveau des cellules de Sertoli, on peut supposer la mise en place de processus modulant le niveau d'accumulation de certaines protéines nécessaires au maintien des fonctions de soutien de ces cellules somatiques à la spermatogenèse, fonctions testiculaires potentiellement affectées par le FM. En effet, pour aller dans le sens de cette hypothèse, nous avons observé la modulation d'un certain nombre de transcrits et protéines connus pour participer à cette fonction de soutien. La protéine Transferrine (Tf) (Skinner and Griswold 1980), ainsi que les transcrits codant pour la protéine de liaison à l'IGF (Igfbp2) (Smith *et al.* 1990), pour les Cathepsine (Ctslb, Ctsd, Ctsh) (Mathur *et al.* 1997), pour la Cystatine (Tsuruta *et al.* 1993)

et pour l' Inhibine α (Inha) (Steinberger 1979) sont retrouvés sur exprimés dans le testicule de rats adultes après une exposition répétée de 28 jours au FM.

Par ailleurs, nous avons été confrontés à des difficultés de compréhension de nombreuses données moléculaires obtenues à l'étude sub-aigüe de 28 jours. Nous avons été capables d'interpréter certaines données moléculaires relatives aux effets les plus marqués, à savoir l'induction de la synthèse de la testostérone et l'hyperplasie des cellules de Leydig, détectés par les approches conventionnelles. Par contre, les nombreuses modulations moléculaires mesurées après 28 jours de traitement au FM, ne pouvant être rattachées à des altérations phénotypiques concrètes nous apparaissent difficilement interprétables. Nous pensons que cette difficulté à donner du sens à nos résultats pourrait être liée au fait qu'après 28 jours de traitement successifs, de nombreux phénomènes sont perturbés en parallèle au sein de l'organisme exposé au FM. Ainsi les données moléculaires obtenues reflèteraient à la fois des effets primaires du FM, des effets secondaires et/ou compensatoires induits et donc correspondraient à un mélange d'effets difficilement dissociables et donc interprétables.

En conséquence, nous avons décidé de mener une étude aigüe afin de nous soustraire des multiples effets toxiques du FM et de nous focaliser sur les effets pharmacologiques de cet antiandrogène.

Dans cette étude aigüe, le profil du niveau de la testostérone plasmatique ainsi que le profil d'expression des gènes androgéno-dépendants et des gènes impliqués dans la stéroïdogénèse, nous laissent penser que le FM possède une double activité agoniste/antiandrogénique en fonction de sa concentration plasmatique. Cette double activité a déjà été décrite dans des études menées par le groupe d'E.M. Wilson (Wong *et al.* 1995; Kemppainen and Wilson 1996). En présence de forte concentration, au temps 24 h dans notre étude aigüe, le 2-hydroxyflutamide, métabolite actif du FM, semble se comporter comme une molécule agoniste. Son activité antiandrogénique serait restaurée 48 h après l'administration unique du FM, lorsque sa concentration redevient plus faible. Afin d'interpréter les résultats obtenus par les analyses transcriptomique et protéomique, nous avons donc décidé de discriminer les effets obtenus aux deux points de mesure 24 h et 48 h, où le FM se comporte apparemment de manière successive comme un agoniste au RA puis comme un antagoniste.

Par cette étude aigüe nous avons démontré la capacité des nouveaux outils « -omiques » à détecter des modulations des profils d'accumulation de transcrits et de protéines impliqués dans des fonctions testiculaires, en l'absence de toute lésion tissulaire apparente. En effet, quelques heures après une administration unique de FM, de nombreux transcrits et protéines testiculaires, impliqués dans les fonctions biologiques tel que la réplication de l'ADN, le cycle cellulaire, la croissance et la prolifération cellulaire, ou participant au maintien de la barrière hémato-testiculaire et des jonctions spécialisées établies entre les cellules testiculaires, sont retrouvés modulés alors qu'aucune lésion au niveau du testicule n'est observée.

De plus, les données moléculaires obtenues dans cette étude court terme semblent être prédictives des effets potentiellement toxiques induits par le FM à plus long terme. En effet, nous avons observé, quelques heures après une administration unique du FM, la modulation du niveau d'accumulation de transcrits et protéines impliqués de façon directe ou indirecte dans les processus de croissance et de prolifération cellulaire, alors qu'aucun changement histologique du testicule n'est observé. Après 28 jours de traitement au FM, un phénomène d'hyperplasie des cellules de Leydig est clairement observé au niveau du testicule. Nous pouvons donc supposer que les modulations au niveau moléculaire détectées précocement, peuvent être prédictives des effets toxiques induits par le FM au niveau de l'appareil reproducteur mâle après 28 jours de traitement successifs. Des analyses complémentaires apparaissent être toutefois nécessaires afin d'approfondir la recherche de potentiels biomarqueurs permettant une prédiction plus fine des effets connus du FM à long terme.

D'un point de vue mécanistique, les modulations d'expression génique obtenues par l'utilisation des outils « -omiques » dans cette étude aigüe où aucune altération au niveau histologique n'a été observée, nous ont permis d'émettre des hypothèses sur le possible effet perturbateur du FM au bon déroulement de la spermatogenèse et de la spermiogenèse. Suite à une exposition unique, le FM semble capable de moduler le niveau d'accumulation de transcrits et de protéines impliqués dans la barrière hémato-testiculaire et dans les jonctions spécialisées (ES) établies au niveau des cellules testiculaires. Ces données sont confortées par les travaux de l'équipe de C. Mori qui ont démontré la capacité du FM à affecter la ES entre les cellules de Sertoli et les spermatides (Anahara *et al.* 2004; Anahara *et al.* 2006a), et par ceux de Guy M.C. et Ohsako S. qui ont également montré l'effet délétère du FM au niveau de la barrière hémato-testiculaire (Gye and Ohsako 2003). De plus, il est reconnu qu'une suppression de testostérone endogène pourrait être la cause d'un défaut de la spermiogenèse dû à la déstabilisation de certains complexes protéiques impliqués dans les jonctions adhérentes au niveau de la ES apicale et que l'intégrité des jonctions cellulaires

apparaît être nécessaire au déroulement d'une spermatogenèse normale (Wong *et al.* 2005). Ainsi, on peut supposer que le FM est capable d'induire un effet potentiellement négatif sur le développement et le mouvement des cellules germinales pendant la spermatogenèse.

Les effets du FM sur la spermatogenèse sont à ce jour encore mal définis. Les résultats relatifs à cette fonction biologique obtenus dans les études aiguë et sub-aiguë de 28 jours, ainsi que les nombreuses données rapportées dans la littérature, nous laissent penser que les effets de cet antiandrogène sur des animaux adultes sont dépendants de la durée d'exposition et de la dose administrée.

Dans l'étude sub-aiguë de 28 jours, nous avons pu mettre en évidence, uniquement à la faible dose de FM, la modulation du niveau d'accumulation de quelques transcrits codant pour des protéines impliquées dans certaines étapes clés de la spermiogenèse. Par contre, aucune altération des cellules germinales n'a été observée au niveau histologique. Seule une augmentation du nombre de cellules germinales anormales et de débris cellulaires est observée dans l'épididyme de certains animaux traités à la forte dose de FM, résultats en accord avec ceux obtenus chez des rats traités pendant 28 jours au FM à 100 mg/kg/j où une augmentation de la fréquence de spermatozoïdes anormaux est constatée (Andrews *et al.* 2001; Kunimatsu *et al.* 2004). Des phénomènes de dégénération des spermatocytes et de diminution du nombre de spermatocytes leptotènes, spermatides rondes et allongées sont également observés dans le testicule de rats adultes traités au FM pendant 14 jours à une dose de 200 mg/kg/j (gavage), phénomènes apparaissant moins marqués après 28 jours de traitement (Okahara *et al.* 2000). Après l'administration d'une dose forte (150 mg/kg) et unique de FM, nous avons constaté la modulation du niveau d'accumulation de transcrits et de protéines impliqués dans la barrière hémato-testiculaire et dans les jonctions spécialisées (ES) établies entre les cellules testiculaires, sans aucune altération histologique au niveau du testicule, données confortées par plusieurs travaux démontrant la capacité du FM à affecter de manière transitoire la ES entre les cellules de Sertoli et les spermatides (Anahara *et al.* 2004; Anahara *et al.* 2006a), ainsi que l'effet délétère du FM au niveau de la barrière hémato-testiculaire (Gye and Ohsako 2003).

En s'appuyant sur l'ensemble de ces données ainsi que sur la littérature, on peut supposer que les effets du FM administré à de fortes doses sur la spermatogenèse d'animaux adultes sont temporaires après une administration unique, et partiellement ou totalement restaurés après une exposition répétée relativement longue.

Après 28 jours de traitement au FM à une dose forte, on peut émettre l'hypothèse qu'un ou plusieurs processus compensatoires se mettent en place au niveau du testicule pour faire face à l'effet antiandrogénique du FM. La spermatogenèse et l'activité des tissus sexuels accessoires pourraient être restaurées par :

1) la synthèse accrue de testostérone induite par le FM.

Sachant que la concentration en testostérone au niveau testiculaire est très supérieure à sa concentration plasmatique, et que la testostérone a plus d'affinité que le 2-hydroxyflutamide sur le RA (Simard *et al.* 1986), on peut supposer que cette forte concentration en testostérone contrecarre partiellement l'effet du FM au niveau du testicule,

2) la conversion de la testostérone en œstrogènes.

Les œstrogènes sont depuis peu, reconnus comme de nouveaux régulateurs locaux de la spermatogenèse (O'Donnell *et al.* 2001; Akingbemi 2005). Ainsi on ne peut exclure que certains effets observés soient œstrogéno-dépendants,

3) des voies alternatives ne passant pas par les RAs.

L'hypothèse de l'établissement de tels mécanismes compensatoires passant par l'acide rétinoïque, par exemple, a été émise dans la publication 1.

Par ailleurs, le fait d'observer une augmentation du nombre de cellules germinales anormales et de débris cellulaires au niveau de l'épididyme après 28 jours de traitement successifs au FM est cohérent avec ces hypothèses et correspondrait aux conséquences de la perturbation de la spermatogenèse avant la mise en place du ou des mécanismes compensatoires. Concernant la modulation, à la faible dose, du niveau d'accumulation de quelques transcrits codant pour des protéines impliquées dans certaines étapes clés de la spermiogenèse, on peut supposer qu'à cette dose, les perturbations au niveau moléculaire induites par le FM après 28 jours de traitement, n'ont pas de conséquence d'un point de vue histologique sur la spermatogenèse.

Ces différentes hypothèses nécessiteraient toutefois des analyses complémentaires. Ainsi, il serait intéressant d'effectuer un dosage du 2-hydroxyflutamide et des œstrogènes plasmatique et intratesticulaire après 28 jours de traitement à la forte dose de FM.

Il serait également pertinent d'évaluer, par des approches conventionnelles et «-omiques », les conséquences d'une exposition à une forte dose de FM, plusieurs heures, voire quelques jours après l'administration du FM. En effet, au temps 8 h, 24 h et 48 h, seul un petit nombre de transcrits et de protéines, somme toute pertinents, sont reliés au phénomène de spermatogenèse et de spermiogenèse. On peut supposer qu'après 72 h,

96 h, voire quelques jours, les profils d'expressions géniques obtenus pourraient apporter des informations supplémentaires et renforcer l'effet supposé transitoire du FM après une administration unique. Les effets du FM sur la SE (Anahara *et al.* 2006a) ainsi que sur la barrière testiculaire (Gye and Ohsako 2003) ont été observés respectivement entre 12 h et 180 h après une administration unique (0.012 µg/g), et 2 jours après une administration répétée sur 6 jours (25 mg/kg/j). De plus, Omezzine A. et collaborateurs ont détecté, après 3 jours d'exposition au FM (10 mg/kg/j), une induction également transitoire du processus d'apoptose des cellules germinales via une augmentation de l'expression et de l'activation de deux caspases effectrices, la caspase 3 et la caspase 6, phénomène réversible après l'arrêt du traitement (Omezzine *et al.* 2003).

L'analyse conjointe de l'ensemble des résultats issus d'approches conventionnelles et des nouvelles approches transcriptomique et protéomique menées dans 2 études de toxicologie, nous a donc permis d'apporter de nouveaux éléments nécessaires à une meilleure compréhension du mécanisme d'action du FM au niveau de l'appareil reproducteur chez le rat mâle adulte.

Toutefois, nous avons été confrontés à des difficultés de compréhension de nombreuses données moléculaires issues de ces 2 études de toxicologie. Une des limites rencontrées dans l'interprétation de ces données d'expression génique est probablement liée à la complexité de l'organe étudié. En effet, les données obtenues représentent une réponse globale du testicule. Or, cet organe est constitué de 3 types cellulaires principaux, chacun ayant des fonctions spécifiques et pouvant répondre différemment aux variations de concentration des androgènes. Les données moléculaires obtenues reflètent probablement un mélange d'effets difficilement dissociables et donc interprétables. De plus, l'effet du FM sur certains transcrits et protéines spécifiques d'un type cellulaire donné peut être « dilué » dans ces études où nous avons travaillé sur le testicule entier. Ainsi, un prétraitement du tissu par un fractionnement subcellulaire devrait permettre de lever cette complexité et ainsi révéler des modulations d'expression plus fines.

Par ailleurs, au cours de ce travail nous sommes également intéressés à l'effet du FM sur l'appareil reproducteur mâle de rats adultes exposés à cet antiandrogène pendant leur vie fœtale. Les mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu suite à la suppression de la synthèse des androgènes ou par l'inhibition de l'activation des RAs au cours du développement fœtal, responsables des phénomènes de cryptorchidie et d'hypospadias, de malformation de tissus androgéno-dépendants ou encore de réduction de la fertilité, sont encore aujourd'hui mal compris et doivent être élucidés (Gray *et al.* 2001; McIntyre *et al.*

2001; Miyata *et al.* 2002; Foster and Harris 2005). Nous avons ainsi essayé de comprendre comment des molécules de type antiandrogénique, tel que le FM, sont capables d'affecter les fonctions testiculaires. Nous nous sommes interrogés sur le mécanisme impliqué dans l'apoptose chronique des cellules germinales de rats adultes exposés au cours de leur vie foétale (Omezzine *et al.* 2003; Bozec *et al.* 2004), ainsi que sur le rôle que pouvait avoir les cellules de Sertoli dans ce processus apoptotique des cellules germinales adultes. Il est actuellement reconnu que les cellules de Sertoli (et les cellules péritubulaires myoïdes) qui expriment le récepteur aux androgènes (You and Sar 1998) sont les seules cellules cibles de la testostérone au niveau des tubes séminifères et que ces cellules jouent un rôle primordial dans le bon déroulement de la spermatogenèse. Nous avons pu montrer que les cellules de Sertoli issues de rats exposés *in utero* au FM ne sont plus capables de protéger les cellules germinales adultes contre l'apoptose et que cette altération des fonctions sertoliennes pourrait être liée à une perturbation du processus de maturation de ces cellules de Sertoli au cours du développement foetal, suite à l'exposition à des antiandrogènes.

Dans cette étude *in utero*, nous avons focalisé notre attention sur quelques acteurs moléculaires spécifiques des cellules de Sertoli ou des cellules germinales, or il serait intéressant d'analyser le profil d'accumulation de l'ensemble des protéines et transcrits de ces cellules afin, d'une part, de valider nos résultats et d'autre part d'identifier de nouvelles cibles moléculaires des antiandrogènes. A l'heure actuelle, il existe très peu de données provenant de travaux réalisés sur des animaux exposés *in utero* à des antiandrogènes et dont l'analyse des profils protéomiques et transcriptomiques est effectuée sur les tissus adultes. Seules quelques études se sont intéressées aux effets des antiandrogènes sur des tissus foetaux (Shultz *et al.* 2001; Liu *et al.* 2005; Mu *et al.* 2006) et ont démontré l'intérêt de telles approches « -omiques » dans l'identification de potentiels mécanismes moléculaires par lesquels les antiandrogènes pourraient induire leurs effets délétères au cours du développement du tractus génital mâle. Dans notre modèle *in utero*, les données moléculaires générées par l'utilisation d'une approche globale « -omiques » devraient nous permettre d'identifier les mécanismes cellulaires et moléculaires mis en jeu par les antiandrogènes dans la programmation foétale des altérations de la lignée germinale adulte. Par ailleurs, la comparaison des profils d'accumulation de transcrits et protéines testiculaires obtenus suite à une exposition *in utero* et après une exposition à l'âge adulte, devrait nous permettre la mise en évidence de nombreux gènes et voies métaboliques spécifiquement modulés au stade foetal et donc impliqués dans le développement des tissus androgéno-dépendants et indispensables aux fonctions de l'appareil reproducteur à l'âge adulte.

De plus, nous ne pouvons pas exclure que les altérations du niveau d'accumulation des transcrits spécifiquement exprimés dans les cellules de Sertoli adultes, dans les testicules de rats exposés *in utero* au FM, soient liées à des altérations de type épigénétique

de la transcription des gènes androgéno-dépendants. En effet, Anway M.D. et collaborateurs ont montré que le processus chronique d'apoptose des cellules germinales adultes chez des rats exposés *in utero* à des antiandrogènes, serait transgénérationnelle et impliquerait des altérations épigénétiques (Anway *et al.* 2005; Anway *et al.* 2006). Il serait donc intéressant de définir la nature des mécanismes épigénétiques mis en jeu au cours du développement en évaluant le niveau de méthylation/d'acétylation des promoteurs des gènes androgéno-dépendants.

Les analyses transcriptomique et protéomique effectuées dans les études conventionnelles de toxicologie, nous ont permis de mettre en évidence la modulation d'un grand nombre de transcrits et de protéines. L'approche protéomique a permis la détection d'environ cent cinquante protéines dont le niveau d'accumulation est affecté par le FM. Parallèlement, l'analyse transcriptomique, sur ces mêmes échantillons, a révélé la modulation du niveau d'expression de plus de trois mille transcrits. Il est clair et reconnu que l'analyse protéomique, par une approche électrophorèse bidimensionnelle, présente un certain nombre de limitations et ne permet la détection que d'un nombre restreint de protéines exprimées dans un tissu donné. Cette approche n'autorise que difficilement la détection de protéines de très haut poids moléculaire ou ayant des pI extrêmes, les protéines de faible abondance, présentes en un faible nombre de copies ainsi que certaines classes de protéines comme les protéines membranaires ou nucléaires. Par contre, la protéomique présente l'avantage de se focaliser sur les acteurs moléculaires des cellules et permet de révéler les modifications post-traductionnelles de ces protéines. L'analyse transcriptomique permet, quant à elle, de déceler des modulations fines du niveau d'accumulation de nombreux transcrits et donne ainsi une image complète des gènes exprimés par un tissu à un temps donné.

De façon similaire à ce qui est rapporté dans la littérature, nous avons montré une bonne complémentarité des résultats obtenus par ces deux approches « -omiques ». De nombreuses études décrivent l'existence d'un faible degré de corrélation entre les abondances relatives de certaines protéines et de leur ARNm correspondant, suggérant la nécessité d'effectuer conjointement des analyses protéomique et transcriptomique (Cox *et al.* 2005; Merrick and Madenspacher 2005). Principalement dans l'étude sub-aigüe de 28 jours, nous avons constaté une bonne cohérence entre les résultats de transcriptomique et protéomique, avec environ 30 % des protéines identifiées et affectées par le FM qui possèdent leur transcrit correspondant modulé de façon similaire.

L'utilisation conjointe de ces 2 technologies « -omiques » nous a permis de caractériser la façon dont le transcriptome et le protéome testiculaire répondent à une exposition à un antiandrogène et ainsi avoir accès à un niveau de sensibilité supérieur à

celui atteint par les analyses gravimétriques, hormonales et histologiques classiquement menées dans les études de toxicologie. La mise en place conjointe d'une analyse transcriptomique et protéomique dans des études conventionnelles de toxicologie semble être une bonne stratégie, permettant de collecter de nombreuses informations complémentaires, et ainsi nous a permis d'émettre des hypothèses relatives au mécanisme d'action par lequel le FM induit des effets potentiellement toxiques sur l'appareil reproducteur mâle ainsi que sur les mécanismes de régulation des fonctions testiculaires.

Par ce travail, nous avons également pu développer et valider l'utilisation d'approches «-omiques » jusqu'alors très peu utilisées dans des études conventionnelles de toxicologie. En utilisant un composé de référence, le FM, dont le mode d'action et les effets toxiques sont bien caractérisés par des approches conventionnelles, nous avons pu montrer la capacité des outils « -omiques » à détecter des modulations du niveau d'accumulation de transcrits et de protéines pertinentes. Nous avons ainsi démontré l'intérêt d'utiliser de telles approches en Toxicologie.

L'ensemble de ce travail a aujourd'hui permis la mise en place de stratégies similaires appliquées à des composés Bayer CropScience en développement. Dans le cadre d'études de criblage, ces approches de toxico-génomiques ont permis de discriminer plusieurs composés en apportant des éléments complémentaires à ceux obtenus dans les études de toxicologie conventionnelles. Ces outils ont également permis de mieux comprendre les effets toxiques observés dans des études réglementaires, par l'élucidation du mode d'action du composé étudié.

La communauté scientifique est à l'heure actuelle confrontée à des difficultés de compréhension des très nombreuses modulations moléculaires collectées. En effet, l'enjeu de ce type d'analyse est de réussir à appréhender la relation entre ces nombreuses données et la réponse du système biologique induite suite à l'exposition à un xénobiotique, et donc à intégrer et interpréter correctement l'ensemble des données générées par ces outils « -omiques » dans le cadre de la problématique posée. Des progrès semblent encore être nécessaires dans ce domaine avant de pouvoir appliquer sereinement de telles approches dans les processus d'évaluation du risque. Toutefois, les données issues de ces nouvelles approches « -omiques » sont extrêmement utiles en complément des observations conventionnelles et permettent d'identifier de potentiels biomarqueurs, de définir des « signatures géniques » de toxicité, et de générer des hypothèses relatives au mécanisme d'action du composé étudié (Waters and Fostel 2004; Leighton 2005; Reynolds 2005) .

❧ **AUTRE PUBLICATION** ❧

∞ AUTRE PUBLICATION ∞

Depuis quelques années, l'USEPA ainsi que l'OCDE ont mis en place des programmes visant à améliorer les processus d'évaluation et de détection de molécules présentes dans l'environnement et se comportant comme des perturbateurs endocriniens (PE). Des validations internationales ont été réalisées ces dernières années pour trois tests permettant de détecter chez le rat, d'éventuels PE. Le but étant de développer des tests de criblage robustes, reproductibles et pertinents, capables de détecter les composés ayant une activité oestrogénique, antioestrogénique, androgénique ou antiandrogénique. Alors que deux de ces tests, le test utéro-trophique et celui suivant la ligne directrice 407 améliorée de l'OCDE sont à ce jour quasiment validés, des études supplémentaires sont nécessaires à la validation du test de Hershberger.

Le test de Hershberger permet de détecter des substances ayant une activité androgénique et antiandrogénique. Ce test utilise des rats mâles castrés chirurgicalement et repose sur les variations de poids des tissus sexuels accessoires androgène-dépendants (vésicules séminales, la prostate ventrale, le gland pénien, le muscle bulbo-caverneux et les glandes de Cooper) induites par les substances testées. Aujourd'hui, sous la pression d'organismes variés tels que les mouvements de protection des animaux ainsi que l'émergence de la règle des 3R (Remplacer, Réduire et Raffiner les tests sur animaux), l'aspect éthique de ce test est remis en question. L'OCDE a de ce fait préconisé le développement d'un nouveau modèle alternatif où les rats mâles castrés sont remplacés par des rats mâles immatures, ainsi que la validation de ce test de Hershberger amélioré par l'évaluation en aveugle, de plusieurs composés ayant une activité antiandrogénique.

Avant d'entreprendre ce type d'étude, nous avons préféré valider ce modèle dans notre laboratoire en testant l'activité de 2 antiandrogènes, le DDE et le Linuron, ainsi que le FM comme contrôle positif. Ces composés ont déjà été évalués dans le test de Hershberger classique (Owens *et al.* 2006) et sur des rats immatures (Ashby *et al.* 2004), nous avons donc pu comparer ces données publiées avec celles obtenues dans notre laboratoire. En plus des paramètres conventionnellement mesurés, nous avons effectué, chez certains animaux, une analyse histologique des testicules, des vésicules séminales et de la prostate dorso-latérale, ainsi qu'une analyse protéomique de la prostate ventrale. L'objectif de cette investigation protéomique était d'analyser le niveau d'accumulation d'une protéine prostatique, la L-amino acid oxidase (LAO), dont l'expression a récemment été observée comme régulée par les androgènes (Cayatte *et al.* 2006), ceci afin de confirmer la possible utilisation de cette protéine comme biomarqueur propre à une exposition à un antiandrogène.

Evaluation of the Antiandrogenic Effects of Flutamide, DDE, and Linuron in the Weanling Rat Assay Using Organ Weight, Histopathological, and Proteomic Approaches

Helen Tinwell,¹* Claire Friry-Santini,* David Rouquié,* Sara Belluco,† Laetitia Elies,† Catherine Pallen,‡ and Remi Bars*

*Departments of Research Toxicology, †Pathology, and ‡Experimental Toxicology, Bayer CropScience, 06903 Sophia-Antipolis, France

Received June 4, 2007; accepted July 26, 2007

The Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) is currently funding the validation of the Hershberger assay as a rapid *in vivo* means of identifying (anti-) androgens. However, as the assay measures weight changes in the androgen-sensitive tissues of castrated rats, the evaluation of the androgen-stimulated intact weanling as a more ethical model to use in the assay has been requested. As part of the OECD validation exercise two weak antiandrogens, 1,1-dichloro-2,2-bis(4 chlorophenyl)ethane (DDE) and linuron (LIN), were investigated in our laboratory at several dose levels in the testosterone propionate (TP)-stimulated weanling using flutamide (FM) as a positive control. In addition to weight measurements (sex accessory tissues [SATs], epididymides, and testes), histopathological assessment of the seminal vesicles, prostate, and testes was conducted for vehicle control, TP-stimulated, and TP-stimulated animals treated with FM or the top dose level of DDE or LIN. The modulation of a novel prostate protein associated with apoptosis, L-amino acid oxidase (LAO), was evaluated in these same treatment groups. Our gravimetric data (supported by the histopathology data) indicated that the weanling assay can detect SAT and epididymal weight changes induced by the antiandrogens evaluated. Inconsistent and variable data were recorded for the testicular weight and histopathological effects, suggesting that the testis is of little value in the identification of antiandrogens using this model. Three isoforms of LAO were identified, and all were regulated by TP. Modulation of LAO by the antiandrogens indicated that this protein could be a biomarker for endocrine disruption in male rodents.

Key Words: antiandrogens; stimulated weanling; Hershberger; L-amino acid oxidase.

The recognition that certain environmental chemicals can modulate the endocrine system leading to adverse effects on the normal sexual development and reproductive functioning in animals has resulted in several initiatives designed to improve our ability to detect such endocrine disrupting chemicals

(EDCs). A key requirement for the inclusion of an assay into any testing strategy is that the candidate assay be extensively validated to ensure its reproducibility, reliability, and relevance. To this end, the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD) Endocrine Disruptors Testing and Assessment (EDTA) Validation Management Group has been responsible for managing the validation programs of such *in vivo* rodent assays as the enhancement of the test guideline 407 (OECD, 2000), the uterotrophic assay (Kanno *et al.*, 2001, 2003) and, more recently, the Hershberger assay (Owens *et al.*, 2006, 2007). Although the validation of TG407 and the uterotrophic assay are nearing completion, additional studies, such as those described herein have been requested to complete the process for the Hershberger assay.

The Hershberger assay is a relatively rapid *in vivo* means of assessing the (anti-) androgenic potential of a chemical by measuring changes in the weights of the androgen-responsive sex accessory tissues (SATs, i.e., Cowper's glands, levator ani/bulbocavernosus muscle [LA/BC], seminal vesicles [SVs; with coagulating gland and dorsolateral prostate [DPs]], and ventral prostate [VP]). Unfortunately, as surgically castrated adult rats are required for the assay, the ethics of such a model have been questioned. Consequently, and, in line with the uterotrophic assay evaluations, in which both intact immature and ovariectomized mature female rats were investigated, the OECD EDTA Validation Management Group has requested the evaluation of a stimulated intact weanling male rat as an alternative to the castrated model in the Hershberger assay. While the use of an intact immature male assay to identify androgens is not novel (Greene and Burrill, 1940, 1941), the use of such a model to detect antiandrogens was only recently explored (Ashby and Lefevre, 1997, 2000; Ashby *et al.*, 2002, 2004; Kelce *et al.*, 1995; Monosson *et al.*, 1999; Støker *et al.*, 2000; Marty *et al.*, 2001).

To evaluate this model using noncastrated immature animals, several laboratories have investigated coded compounds, which were either negative controls or antiandrogens, using the testosterone propionate (TP)-stimulated weanling rat. However, before undertaking such a study, we elected to validate the weanling model in our laboratory by assessing

¹ To whom correspondence should be addressed at Bayer CropScience SA, 355 rue Dostoevski, BP 153, 06903 Sophia-Antipolis Cedex, France. Fax: +33-4-93-95-84-54. E-mail: helen.tinwell@bayercropscience.com.

the activity of the weak antiandrogens 1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl)ethane (DDE) and linuron (LIN). An independent dose-response study was conducted for each compound, and flutamide (FM) was included as a positive control in each study. The study design and dose levels used were chosen to allow us to compare our data with published data for both the classic Hershberger assay (Owens *et al.*, 2006, 2007; Kang *et al.*, 2004) and the TP-stimulated weanling rat (Ashby *et al.*, 2004).

We dosed TP-stimulated weanlings with the appropriate antiandrogen for 10 days and evaluated the weight changes induced in the SATs, epididymides, and testes 24 h after the last dose. In addition to the standard gravimetric measurements, additional evaluations were conducted for certain groups of animals (controls, TP-stimulated animals, and TP-stimulated animals exposed to the top dose of DDE and LIN as well as the TP-stimulated FM-treated animals). Specifically, histopathological assessment of the testes, SVs, and DP and proteomic profiling of the VP were performed. For the purpose of this paper, our proteomic evaluations focused exclusively on one particular protein, L-amino acid oxidase (LAO). This protein was originally identified in snake venom (Du and Clemenson, 2002) and was recently observed in the adult rat prostate (Cayatte *et al.*, 2006) following treatment with the antiandrogens FM and finasteride but was absent in control prostates. Thus, as this novel rat protein appears to be sensitive to antiandrogens, it may prove useful as a biomarker for endocrine disruption and so was considered an ideal candidate to investigate in our studies with the weanling rat.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals

TP ($\geq 98\%$ purity), LIN (99% purity), FM ($> 99\%$ purity), and DDE (99% purity) were purchased from the Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France). All four compounds were suspended in tocopherol-stripped corn oil (TSCO), which was purchased from MP Biomedicals (Strasbourg, France). The suppliers of all additional compounds are mentioned in the text.

Animals and Housing

All investigations were conducted in accordance with French laws for animal experimentation. Immature male Sprague-Dawley Crl:CD rats were purchased from Charles River (St Germain-sur-l'Arbresle, France). They were 20 days old on arrival and were allowed three days to acclimatize. All animals were group housed (six per cage) in polycarbonate cages with wood chips and were allowed A04C-10 pelleted diet (Scientific Animal Food and Engineering, Augy, France) and water *ad libitum* for the duration of the experiment.

Dose Level Selection

The dose level of TP (1 mg/kg/day by sc injection) was as recommended by the OECD EDTA Validation Management Group (Owens, personal communication). The dose level of FM (3 mg/kg/day; oral) and the doses of DDE (5, 16, 50, and 160 mg/kg/day; oral) and of LIN (3, 10, 30, 100 mg/kg/day; oral) were originally recommended by the OECD for validation of the classic Hershberger assay and were also the same dose levels as those used by Ashby *et al.* (2004) in the initial investigations of the TP-stimulated weanling assay. A dose volume of 2 ml/kg body weight was used for all sc injections and a volume of 5 ml/kg body weight was used for all oral doses.

Study Design

Two independent dose-response studies were conducted, one of which investigated the activity of DDE (experiment 1) in the stimulated weanling rat and the other investigated the activity of LIN (experiment 2). Both assays were conducted as previously described (Ashby *et al.*, 2004). Briefly, 23-day-old rats were exposed to a single sc injection of either vehicle (TSCO) or TP as well as a single oral gavage of TSCO, DDE, or LIN at the appropriate dose level or FM on each of 10 consecutive days. The animals were killed 24 h after the last dose by an overdose of isoflurane (T.E.M., Lormont, France), followed by exsanguination. The liver, kidneys, adrenals, testes, epididymides, and SATs were removed, trimmed free of fat and connective tissue, and weighed.

Histopathological Analyses

Histopathological assessment of the testes, SVs, and DP of vehicle control animals, TP-stimulated animals, and TP-stimulated animals coexposed to 160 mg/kg/day DDE, 100 mg/kg/day LIN, or 3 mg/kg/day FM was conducted. The SVs and DP were fixed in 10% neutral buffered formalin. In experiment 1, the testes were fixed in modified Davidson's buffer, however, to improve the fixation, the testes in the second study were fixed in Davidson's buffer. The organs were embedded in paraffin wax, and 4- μ m histological sections were prepared and stained with hematoxylin (Sigma-Aldrich) and eosin (Merck, Fontenay-sous-Bois, France).

The SVs and the DP were evaluated for glandular growth (glandular size, presence and size of a lumen, presence of intraluminal secretions, and epithelial maturation) with the maturation process being graded from 1 (minimal amount of glandular parenchyma, with no or minimal lumen and intraluminal secretions) to 4 (nearly mature parenchyma, with well-developed glands filled with secretions) for each animal.

The testes were evaluated for impaired tubular growth and apoptosis. Impaired tubular growth was defined as a reduced tubular diameter (based on the number of tubules observed in the diameter of a field of vision at $\times 20$ magnification) and cellular depletion of the germ cells within the tubules. A grading from 0 (considered to be normal morphology with four to five tubules per diameter and the presence of normal tubular germ cells) to 4 (up to 15 tubules per diameter coupled with a high degree of germ cell depletion including the presence of some tubules containing only Sertoli cells) was used to evaluate the degree of tubular impairment. In addition, a semi-quantitative evaluation of the number of apoptotic cells, as defined as those germ cells with shrunken eosinophilic cytoplasm and pyknotic or absent nuclei, was performed. A grading from 0 (considered to be normal with scattered apoptotic cells in few tubules) to 2 (up to 20 apoptotic cells per tubule) was used.

For each tissue/histopathological finding evaluated, a mean severity grade was determined for each treatment group based on the individual animal gradings.

Proteomic Analyses

Prostate tissue protein extraction. The isolation of VP proteins, the conduct of two-dimensional electrophoresis (2-DE), and the subsequent analysis of the protein profiles were conducted based on the procedure described by Cayatte *et al.* (2006). Briefly, the VP from each animal from the same groups as the groups used for histological analyses was homogenized in lysis buffer (7M urea, 2M thiourea, 4% 3-[(3-cholamidopropyl)dimethylammonio]-1-propanesulfonate [wt/vol], 0.24% Triton X-100 [vol/vol]) supplemented by 20mM spermine (Sigma-Aldrich) using a Dounce homogenizer followed by a Tenbroeck homogenizer. After centrifugation ($18,000 \times g$ for 45 min at 20°C), the protein concentration of each resulting supernatant was determined using the modified Bradford protein assay (Ramagã and Rodriguez, 1985) using bovine serum albumin in lysis buffer to generate the standard curve.

As there were no differences in terms of quantity and quality (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis [SDS-PAGE] profile) between the isolates within a group, the individual prostate protein samples within a group were pooled. All protein samples were kept frozen at -80°C until used.

Two-dimensional gel electrophoresis. As the 2-DE analysis was performed for both studies at the same time, one gel per study was prepared for

the vehicle control, TP only, and TP/FM groups. Two gels per treatment group were prepared for the TP/DDE and TP/LIN top dose groups. Thus, a total of 10 gels, two per treatment group were prepared and analyzed.

Precast immobilized pH gradient (IPG) strips (pH range 3–10; linear gradient, 17 cm, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) were rehydrated with 330- μ l lysis buffer supplemented with 100mM 2-hydroxyethyl disulfide (2-HED, Acros Organics, Geel, Belgium) (Olsson *et al.*, 2002) and 0.001% bromophenol blue as a tracking dye and incubated for 9 h at 20°C (passive rehydration). Using a cup-loading system (Bio-Rad), 600 μ g of each pooled protein extract was supplemented with 100mM 2-HED and loaded onto IPG strips. The isoelectric focusing (IEF) step was carried out using a Proteom IEF Cell (Bio-Rad) at 20°C under low viscosity oil, and the proteins were focused successively for 15 min at 250 V, followed by a slow (15 h) voltage ramping to 10,000 V, and focusing was continued at 10,000 V up to 300,000 Vh. Prior to SDS-PAGE, the IPG strips were incubated at room temperature for 30 min in an equilibration buffer (0.375M Tris-HCl [pH 8.8], 6M urea, 20% glycerol, 4% SDS; Sigma-Aldrich) containing 6.5mM dithiothreitol (DTT) (Sigma-Aldrich), to reduce the proteins. A second equilibration step was carried out for 40 min under the same conditions, except that DTT was replaced by 13.5mM iodoacetamide (Sigma-Aldrich), and 0.001% bromophenol blue was added as a tracking dye. The equilibrated strips were then loaded onto 10% SDS-PAGE, with 4% SDS-PAGE on top as a stacking gel. IPG strips were sealed with 1% low melting point agarose to ensure good contact between the IPG strips and the gel. The second dimension of 2-DE was carried out using the Ettan Daltis Electrophoresis Unit (Amersham, Orsay, France) connected to a PowerPac 1000 Power Supply (Bio-Rad). The electrophoresis was performed at 10°C with Tris-glycine buffer (25mM Tris base, 192mM glycine, 0.1% SDS) at a constant power of 5 watt per gel for 30 min followed by 12.5 watt per gel until the tracking dye reached the bottom of the gel. After separation, proteins were visualized by staining the gels with colloidal Coomassie blue stain as recommended by the manufacturer (SafeStain; Invitrogen, Cergy Pontoise, France), and gels were digitalized using the GS-800 Calibrated Densitometer (Bio-Rad), high-resolution scanner.

The protein patterns of each gel were compared using a PD-Quest imaging system (version 7.1, Bio-Rad), and expression levels of the proteins were quantified by analyzing the intensity of each spot. For the purpose of this study, spots considered likely to be LAO, based on their position on the gels as well as their shape, were selected for identification by mass spectrometry.

Protein identification by mass spectrometry. The protein spots of interest were manually excised from the 2-DE gels, processed by enzymatic digestion with trypsin to generate peptide fragments, and analyzed by nano electrospray ionization-tandem mass spectrometry using LCQ DECA XO-PRO mass spectrometers (ThermoQuest, San Jose, CA) (Fry-Santini *et al.*, 2007).

Western blot analysis of LAO. Rat VP proteins, separated by 2-DE, were transferred in Tris-ethanol buffer (25mM Tris base, 192mM glycine, 0.1% SDS, 20% ethanol) at 30 V during 15 h at 4°C onto hydrophobic polyvinylidene fluoride membrane Hybond-P (Amersham). After blotting, the membranes were incubated for 7 h at room temperature with blocking buffer Tris-buffered saline (TBS; 2mM Tris-HCl, 50mM NaCl, pH 7.6) containing 5% (wt/vol) nonfat dry milk. They were then incubated overnight at 4°C under slight agitation with anti-LAO antibodies (2 μ g/ml; Nordic Immunological Laboratories, Tilburg, The Netherlands) in TBS containing 0.5% (wt/vol) nonfat dry milk. After three washes for 5 min with TBS/0.05% Tween (Sigma-Aldrich), the membranes were incubated for 1 h at room temperature with TBS/0.5% (wt/vol) nonfat dry milk buffer containing a 1:10,000 dilution of horseradish peroxidase-conjugated goat anti-rabbit immunoglobulin secondary polyclonal antibody (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Newmarket, Suffolk, UK). They were then washed three times for 5 min in TBS/0.05% Tween and once for 5 min in TBS. Finally, they were incubated for 5 min with ECL plus (Amersham). Detection was performed with autoradiography film (Hyperfilm ECL; Amersham).

Statistical Analyses

The mean and standard deviation for body and tissue weights were calculated for each group. Comparisons between the vehicle control data and

the TP-only exposed data were first conducted, according to the following procedures, to confirm the androgenic activity of TP. Comparisons of variances between the vehicle control group and the TP group were performed using the F-test of homogeneity of variances. When the F-test was not significant, means were compared using the *t*-test (two sided). When the F-test was significant, data were transformed using a log transformation, and the *t*-test was applied on transformed data. If the F-test remained significant even after transformation, means were compared using the Mann-Whitney test (two sided). Comparisons between the TP-only data and the data generated due to antiandrogenic/TP treatment were then conducted for each treatment group, according to the following procedures, to determine the antiandrogenic activity of FM and LIN or DDE at the appropriate dose levels. Group variances were intercompared by the use of the Bartlett test for homogeneity of variances. If the Bartlett test indicated homogeneous variances, the antiandrogen/TP group means were compared to the TP mean using a combination of the ANOVA and Dunnett test (two sided). If the Bartlett test indicated heterogeneous variances, the data were transformed using a log transformation to stabilize the variances. If the Bartlett test on transformed data was not significant, the ANOVA and Dunnett test were performed on transformed data. If the Bartlett test indicated heterogeneous variances (even after data transformation), nonparametric approaches were performed.

RESULTS

Body and Tissue Weights

The gravimetric effects of TP treatment on the weaning rats as well as those of DDE, LIN, and FM on the TP-stimulated weaning rat are given in Table 1 (experiments 1 and 2). The effects of TP treatment and TP plus DDE, LIN, or FM on the weights of the prostate, SV, and epididymides are also given in Figure 1.

Body weights. With the exception of 100 mg/kg/day LIN-exposed animals, neither TP nor TP in combination with FM, DDE, or LIN had any effect on terminal body weight. Cotreatment with TP and the top dose level of LIN significantly reduced ($p \leq 0.01$) the terminal body weight of the exposed animals.

Liver, kidney, and adrenal weights. When the TP-exposed animals were compared to the vehicle control animals, statistically significant increases of liver and kidney weight were observed, but the results were not consistent between the two studies. Animals coexposed to TP and DDE showed a statistically significant increased liver weight at 50 and 160 mg/kg/day ($p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$, respectively) when compared to the TP-exposed animals. A significant ($p \leq 0.01$) reduction in kidney weight was recorded for animals coexposed to TP and 100 mg/kg/day LIN, but this decrease could be related to the reduction of terminal body weight observed for these animals. There were no effects on adrenal weight in any of the test groups.

SAT weights. Stimulation of the weaning rat by 1 mg/kg/day TP induced a significant ($p \leq 0.01$) increase in the weights of all SATs compared to the vehicle controls in both studies.

The positive control antiandrogen, 3 mg/kg/day FM, successfully inhibited the stimulatory effect of TP in both

TABLE 1
Analysis of the Weight Changes Induced by DDE and LIN in the TP-Stimulated Weanling Rat Using FM as a Positive Control

Experiment no	Treatment (mg/kg/day)	Body weight (g) ± SD										
		Initial	Terminal	Liver (g)	Kidneys (mg)	Adrenals (mg)	Testes (mg)	Epididymides (mg)	LA/BC (mg)	Cowper's (mg)	SV (mg)	Prostate (mg)
1	TSCC ^a	52.7 ± 6.6	104.1 ± 14.2	4.6 ± 0.9	1024.1 ± 137.3	24.3 ± 3.8	751.0 ± 143.8	108.2 ± 20.5	72.9 ± 19.4	5.4 ± 3.2	70.6 ± 17.6	50.9 ± 12.6
	TP (1)	54.4 ± 6.4	113.6 ± 11.7	5.2 ± 0.6	1114.1 ± 136.3	24.8 ± 2.6	365.4 ± 61.0 ^{††}	153.2 ± 15.0 ^{††}	209.0 ± 38.4 ^{††}	23.2 ± 2.4 ^{††}	291.7 ± 37.6 ^{††}	134.4 ± 16.4 ^{††}
	FM (5)	50.1 ± 5.4	110.6 ± 15.4	5.1 ± 1.3	1119.4 ± 187.2	22.2 ± 2.2	563.6 ± 177.2	81.2 ± 25.8 ^{**}	131.6 ± 33.6 ^{**}	11.5 ± 3.9 ^{**}	120.6 ± 26.2 ^{**}	63.4 ± 14.3 ^{**}
	DDE (5)	49.0 ± 6.6	109.7 ± 12.1	5.3 ± 0.7	1065.2 ± 116.5	22.7 ± 2.6	357.4 ± 130.4	149.0 ± 18.4	195.5 ± 33.7	21.3 ± 5.0	263.5 ± 51.6	111.8 ± 28.1
	DDE (16)	50.5 ± 5.8	109.8 ± 7.5	5.7 ± 0.5	1109.6 ± 71.9	23.3 ± 2.9	330.3 ± 59.7	141.4 ± 8.7	198.0 ± 31.3	21.6 ± 5.4	268.7 ± 58.6	107.0 ± 14.8
	DDE (50)	50.1 ± 6.7	107.7 ± 7.7	6.3 ± 0.6 [*]	1128.3 ± 104	26.3 ± 2.1	280.3 ± 41.5	121.3 ± 8.2 ^{**}	157.4 ± 22.5 [*]	17.4 ± 1.0	215.2 ± 26.0 [*]	97.2 ± 15.2 ^{**}
	DDE (160)	49.7 ± 6.6	105.8 ± 10.9	7.9 ± 1.2 ^{**}	1164.6 ± 93.5	28.6 ± 6.3	407.1 ± 127.0	95.9 ± 18.1 ^{**}	116.9 ± 16.9 ^{**}	10.3 ± 2.3 [*]	136.1 ± 29.6 ^{**}	78.7 ± 19.2 ^{**}
	TSCC ^a	47.5 ± 5.8	96.2 ± 11.5	4.4 ± 0.8	971.7 ± 90.2	21.5 ± 3.7	665.2 ± 111.7	95.4 ± 15.2	51.5 ± 13.3	4.1 ± 0.9	61.6 ± 7.9	42.0 ± 11.9
	TP (1) ^b	47.8 ± 6.4	110.6 ± 10.6	5.3 ± 0.4 [†]	1133.0 ± 92.4 [*]	22.3 ± 1.4	320.3 ± 57.6 ^{††}	130.6 ± 12.0 ^{††}	156.9 ± 27.7 ^{††}	20.0 ± 1.1 ^{††}	261.5 ± 19.9 ^{††}	102.6 ± 18.1 ^{††}
	FM (5)	46.8 ± 4.6	104.1 ± 17.2	4.7 ± 0.9	1018.6 ± 128.4	22.3 ± 4.4	406.4 ± 233.1	78.3 ± 15.1 ^{**}	107.4 ± 14.9 ^{**}	7.7 ± 0.6 ^{**}	87.2 ± 12.1 ^{**}	60.1 ± 14.7 ^{**}
LIN (5)	46.0 ± 5.5	105.4 ± 9.8	4.8 ± 0.6	1042.0 ± 88.5	25.2 ± 4.6	359.3 ± 73.9	128.2 ± 13.5	177.4 ± 29.0	21.4 ± 5.2	285.3 ± 56.6	111.2 ± 19.3	
LIN (10) ^b	48.2 ± 5.7	108.9 ± 10.5	5.0 ± 0.8	1067.5 ± 47.5	23.2 ± 4.5	382.5 ± 89.3	133.9 ± 8.7	176.4 ± 41.8	21.8 ± 3.5	240.4 ± 42.7	102.6 ± 21.3	
LIN (30)	47.2 ± 5.3	101.8 ± 12.4	4.9 ± 0.8	1055.3 ± 86.3	21.7 ± 3.4	311.9 ± 121.6	114.5 ± 19.0	151.5 ± 40.7	17.9 ± 1.8	239.8 ± 57.3	91.3 ± 16.4	
LIN (100)	47.3 ± 5.4	88.0 ± 10.5 ^{**}	4.3 ± 0.7	883.9 ± 109.1 ^{**}	21.4 ± 4.6	225.1 ± 64.4	88.1 ± 16.3 ^{**}	125.4 ± 28.8	12.2 ± 1.3 [*]	155.2 ± 14.3 ^{**}	69.3 ± 7.5 [*]	

Note. Animals were 23 days old at the start of treatment. They were dosed on 10 consecutive days with an oral dose of the appropriate test compound at the appropriate dose level and were stimulated by an sc injection of 1 mg/kg/day TP. Data are presented as mean absolute tissue weights ± SD based on six animals per group. Comparisons were performed first between the vehicle control and TP only groups for statistical significance ($p \leq 0.05$; $†p \leq 0.01$) to ensure that TP induced the appropriate androgenic effects. A second comparison was then performed between TP and TP plus DDE, LIN, or FM at the various doses ($*p \leq 0.05$; $**p \leq 0.01$) to evaluate the antiandrogenic efficacy of the three coadministered compounds.

^aAnimals in these groups received TSCC by both sc injection and oral gavage and acted as vehicle controls.

^bThere were five animals per group in these two groups.

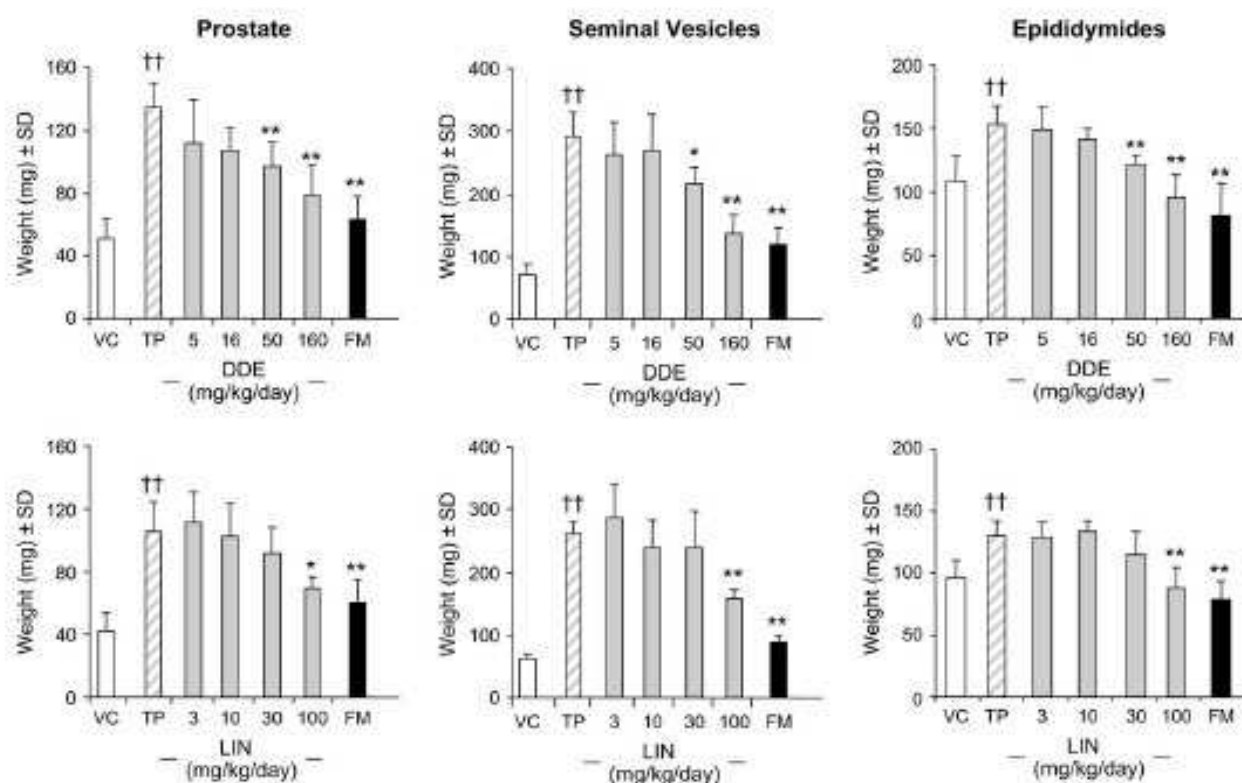


FIG. 1. Effects of TP (1 mg/kg/day) and TP plus DDE, LIN, or FM (3 mg/kg/day) on the weights of the prostate, SVs, and epididymides of the weanling rat. VC, vehicle (TSCO) control; †† $p \leq 0.01$ due to TP-only treatment; * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$ due to treatment with TP plus antiandrogen.

studies, leading to a significant reduction in the weights of all SATs compared to the corresponding tissues from TP-only-treated animals.

DDE induced a dose-related decrease in the weights of all SATs in the TP-stimulated weanling. All SAT weight reductions were statistically significant following cotreatment with TP and the top dose of 160 mg/kg/day DDE. The SAT weight reductions recorded at this dose of DDE were similar in magnitude to those recorded for FM. Statistically significant weight reductions were also observed at the 50 mg/kg/day DDE dose level for the LA/BC, SV, and prostate tissues.

The antiandrogenic effects of LIN were not as marked as those induced by either DDE or FM. Compared to the weights of TP-stimulated tissues, LIN induced a statistically significant decrease in the weights of the prostate, SV, and Cowper's glands at the top dose level (100 mg/kg/day) only. A marginal, though nonsignificant, reduction in the weights of these tissues was also apparent at 30 mg/kg/day and, in the case of the SVs, at 10 mg/kg/day too. Although a reduction in the LA/BC weight was recorded at 100 mg/kg/day, it was not statistically significant.

Epididymides and testicular weights. Effects on epididymal weights were similar to those observed for the SATs. Thus, TP induced a significant increase in epididymal weight, whereas FM, DDE, and LIN reduced the weight of this tissue

in the stimulated weanling. This tissue appeared to be highly sensitive to the effects of the antiandrogens as treatment with FM and either DDE or LIN at the top dose level led to epididymal weights, which were lower than that recorded for the vehicle control animals.

The effects on testicular weight were inconsistent, and a high degree of interanimal variability was recorded. The mean testicular weight was significantly reduced ($p \leq 0.01$) due to TP treatment; however, the corresponding increase in weight following treatment of the stimulated weanlings with FM was not statistically significant. Similarly, a nonsignificant increase in testicular weight was induced by 160 mg/kg/day DDE. In contrast to the FM and DDE data, LIN at 30 mg/kg/day and 100 mg/kg/day induced a reduction (nonsignificant) rather than an increase in testicular weight compared to the TP-stimulated tissues.

Histopathology

The data generated from the histopathological assessment of the SVs, DP, and testes of vehicle control animals, TP-stimulated animals, and TP-stimulated animals coexposed to 160 mg/kg/day DDE, 100 mg/kg/day LIN, or 3 mg/kg/day FM are presented in Table 2. Representative photomicrographs of the SVs, DP, and testes for each treatment group are given in Figures 2A–C. For convenience, the data generated from each

TABLE 2

Analysis of the histopathological changes induced in the SVs, prostate, and testes of vehicle control animals, TP-stimulated animals, and TP-stimulated animals treated with 3 mg/kg/day FM, 160 mg/kg/day DDE, or 100 mg/kg/day LIN

	Vehicle control	1 mg/kg/day TP	1 mg/kg/day TP +		
			3 mg/kg/day FM	160 mg/kg/day DDE	100 mg/kg/day LIN
SVs	Induced glandular growth				
Mean severity grade	1.1	3.1	1.25	1.5	2.5
No. animals affected/no. evaluated	12/12	11/11	12/12	6/6	6/6
Prostate	Induced glandular growth				
Mean severity grade	1.2	2.4	1.3	1.2	1.7
No. animals affected/no. evaluated	12/12	11/11	12/12	6/6	6/6
Testes	Impaired tubular growth				
Mean severity grade	0.08	1.4	1.2	2.0	2.5
No. animals affected/no. evaluated	1/12	10/11	8/12	5/6	6/6
	Increased apoptotic germ cells				
Mean severity grade	0.25	0.7	0.75	0.5	1.3
No. animals affected/no. evaluated	3/12	7/11	6/12	2/6	6/6

Note. The data for the vehicle control, TP-stimulated, and TP + FM animals have been pooled from both experiments. The mean severity grade was calculated for each finding based on the gradings for individual animals within a group. Specifically, glandular growth (i.e., glandular size, presence and size of a lumen, presence of intraluminal secretions, and epithelial maturation) was graded from 1 (minimal amount of glandular parenchyma, with no or minimal lumen and intraluminal secretions) to 4 (nearly mature parenchyma, with well-developed glands filled with secretions). Impaired tubular growth (i.e., reduced tubular diameter, based on the number of tubules observed in the diameter of a field of vision at $\times 20$ magnification, and cellular depletion of the germ cells within the tubules) was graded from 0 (considered to be normal morphology with four to five tubules per diameter and the presence of normal tubular germ cells) to 4 (up to 15 tubules per diameter coupled with a high degree of germ cell depletion including the presence of some tubules containing only Sertoli cells). A semi quantitative evaluation of the number of apoptotic cells (i.e., germ cells with shrunken eosinophilic cytoplasm and pyknotic or absent nuclei) used a grading from 0 (normal with scattered apoptotic cells in few tubules) to 2 (up to 20 apoptotic cells per tubule).

individual experiment were combined for the vehicle controls, TP-stimulated, and TP/FM groups.

The SVs and DP. The morphologies of the SVs (Fig. 2A) and the DP (Fig. 2B) of the vehicle control animals were considered to be normal for this age (33 days) of animal. Specifically, the mean severity grades for these tissues were 1.1 and 1.2, respectively (Table 2), reflecting the minimal glandular growth recorded in the majority of control SVs and DP. In contrast, the SVs and DP of TP-exposed animals were of a more mature morphology with enhanced glandular development resulting in mean severity grades for these tissues of 3.1 and 2.4, respectively.

As expected, based on the gravimetric findings, the positive control, FM, inhibited the maturation of the TP-stimulated SVs and DP. Thus, both tissues were poorly developed and of similar morphology to the control tissues (Figs. 2A and 2B). Consequently, the mean severity grades for the SVs (1.25) and DP (1.3) were similar to those calculated for the control tissues (Table 2).

Treatment of stimulated weanlings with 160 mg/kg/day DDE resulted in SVs (Fig. 2A) and DPs (Fig. 2B), which were of similar morphology to those observed for the vehicle control and FM-treated groups, i.e., poorly developed with

only minimal to slight glandular growth. The mean severity grades calculated for the DDE/TP group (1.5 for SV and 1.2 for DP) were, therefore, similar to those calculated for the control and FM groups (Table 2). The histopathological findings were, therefore, in accordance with the weight changes observed for these two tissues and reinforced the similarity between DDE and FM in their ability to inhibit the stimulatory effects of TP.

In contrast, treatment of the TP-stimulated weanling rat with 100 mg/kg/day LIN had only a slight impact on the morphology of the SVs and DP compared to the morphology of the TP-only-treated tissues (Figs. 2A and 2B). Thus, while the severity grading for the SVs was 3.1 for the TP-stimulated group, it was only marginally reduced to 2.5 for the TP group treated with LIN (Table 2). Similarly, while TP gave rise to a mean severity grading of 2.4 for the prostate, the grading for LIN was 1.7 (Table 2).

Testes. The vehicle control animals exhibited a testicular morphology, which was considered to be normal for immature animals. Specifically, meiotic divisions were observed within the seminiferous tubules, with the most differentiated germ cells present being the round spermatids. Sertoli cells, spermatogonia, and spermatocytes were also observed within the seminiferous tubules, and only a few apoptotic cells were





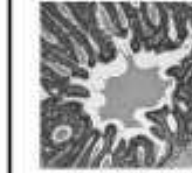



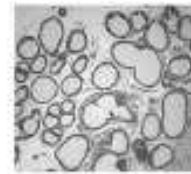
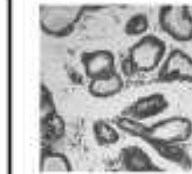
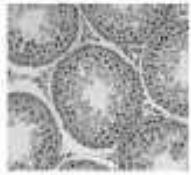
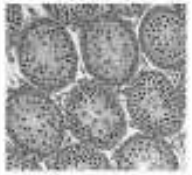

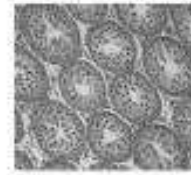

Group	Control	TP	TP + 3mg/kg/d FM	TP +160mg/kg/d DDE	TP + 100mg/kg/d LIN
A. SEMINAL VESICLES 100x magnification	 Normal morphology; immature glands (minimal growth), little secretion	 Induced glandular growth, increased secretion	 Similar to controls	 Similar to controls	 Similar to TP
B. PROSTATE 100x magnification	 Normal morphology; immature glands (minimal growth), little secretion	 Induced glandular growth, increased secretion	 Similar to controls	 Similar to controls	 Similar to TP
C. TESTES 100x magnification	 Meiosis observed, presence of round spermatids. Few apoptotic cells	 Increased apoptosis. Impaired tubular formation	 Similar to controls for majority of animals	 Similar to TP but with slight increase in severity of effects	 Similar to TP but with slight increase in severity of effects

FIG. 2. Representative images of microscopic findings for (A) SVs, (B) DP, and (C) testes for each of the treatment groups evaluated.

recorded (Fig. 2C). This resulted in a mean severity grading of 0.08 for impaired tubular growth and of 0.25 for the presence of apoptotic germ cells (Table 2).

The severity grading increased to 1.4 for impaired tubular growth and to 0.7 for the occurrence of apoptosis following treatment of the weanlings with 1 mg/kg/day TP.

The interanimal variability recorded for the weights of the testes isolated from stimulated weanlings treated with the antiandrogens was also observed during the histopathological assessments. For example, although FM reduced the testicular weight for the majority of treated animals, the testes from two treated animals were approximately 70% lighter than the testes from the rest of the TP/FM group, and they were also approximately 50% lighter than the TP-only testicular weights.

The histopathological findings were in accordance with these observations inasmuch as FM inhibited the effects of TP on the testes (i.e., impaired tubular growth and apoptosis) in the majority of the treated weanlings. However, the same two TP/FM-treated animals showing unexpectedly reduced testicular weights exhibited moderate to severe tubular damage coupled with an absence of germ cells in some tubules. In addition, these two animals exhibited an increased number of apoptotic germ cells, with the incidence of apoptosis being comparable in both animals to that of the animals exposed to TP only. Consequently, the mean severity gradings for the testes of TP/FM-treated animals (1.2 for impaired tubular growth and 0.75 for apoptotic germ cells) were similar to those of the TP-stimulated weanling (Table 2). The weight and

histopathological observations recorded for these two animals do not, however, appear to be correlated with an error in their dosing (e.g., nontreatment with FM) as their SAT weights were significantly reduced compared to those of the TP group (Table 1, experiment 2). In addition, there were no differences in the morphology of the SVs and DP of these two animals compared to the rest of the TP/FM group.

Cotreatment with either DDE or LIN increased the mean severity grade for tubular degeneration from 1.4 recorded for the TP-stimulated weanling to 2.0 for the TP/DDE group and to 2.5 for the TP/LIN group (Table 2; Fig. 2C). In the case of LIN cotreatment, an increased occurrence of apoptotic germ cells was also observed in all treated animals resulting in a mean severity grade of 1.3 compared to 0.7 for the TP group.

Identification and Modulation of LAO (proteomic analysis of prostate tissue)

The modulation of LAO was assessed by 2-DE in the VP of vehicle control animals, TP-stimulated animals as well as TP-stimulated weanlings cotreated with 160 mg/kg/day DDE, 100mg/kg/day LIN, or 3mg/kg/day FM. The conduct of Western blot analysis to identify LAO indicated that the antibody cross-reacted with proteins in at least three neighboring but distinct areas of the gel (data not shown). As the antibody used in the Western blot was derived from snake venom, the observed cross-reactivity could have been indicative of either the use of a nonspecific antibody or the presence of several isoforms of LAO on the gel. To further investigate these possibilities, as well as to determine whether or not the LAO, as described by Cayatte *et al.* (2006), was present on our gels, seven spots (Fig. 3) located in the areas corresponding to the three areas of cross-reactivity recorded on the Western blot were identified by nano ESI-MS/MS. Of these seven spots, four were identified as LAO (Fig. 3), one of which was the protein spot previously published as LAO by Cayatte *et al.* (2006).

The spot intensity ratios for TP treatment versus vehicle control and for antiandrogen/TP treatment versus TP treatment are given in Figures 4 and 5 for the protein confirmed as being LAO according to Cayatte *et al.* (2006). The data indicated that LAO was clearly present in the VP of vehicle control weanling rats and that TP treatment led to a downregulation of this protein by ~60%. Treatment of the stimulated weanling with the antiandrogens led to an upregulation of LAO to varying degrees compared to the TP-only-treated animals. Thus, FM induced an approximately 7-fold increase in the spot intensity of LAO compared to that recorded for the stimulated weanling. Similarly, DDE stimulated a 4.4-fold increase in the production of LAO. A marginal increase in LAO spot intensity (1.42-fold) was recorded due to LIN treatment.

A similar modulation (Fig. 5) was recorded for two of the three additional proteins identified as LAO (spots A and B, Fig. 3). Thus, TP downregulated both proteins by 60–70%

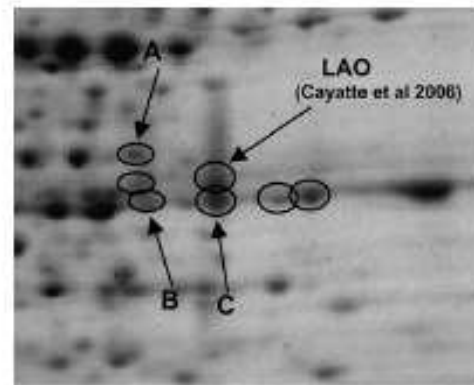


FIG. 3. Based on the Western blot observations, seven spots (ringed) in three neighboring but distinct areas of the 2-DE gels were chosen for identification by nano ESI-MS/MS. One protein was confirmed as being the LAO previously identified by Cayatte *et al.* (2006) and three further proteins (A–C) were also identified as LAO.

compared to the vehicle control, whereas FM led to a two- to threefold increase in spot intensity compared to TP. DDE marginally increased the spot intensity of both proteins. LIN, however, had no effect on the modulation of one of the spots (spot B, Fig. 5) and appeared to downregulate the other (spot A) compared to TP. Insufficient data were available for the third spot (spot C, Fig. 3) as this spot was not present on all gels.

DISCUSSION

The Hershberger assay validation programme has indicated that this model can detect a range of reference EDCs including biochemical modulators, antiandrogens, and androgens (Owens *et al.*, 2007). As part of the validation process, several laboratories are currently assessing the sensitivity of the TP-stimulated, intact weanling model as a more ethical means of identifying EDCs. Before conducting the OECD validation study, we validated the weanling model using compounds and doses levels for which previously published data were available for both the castrated adult and the immature intact animal. At the same time, we assessed the histopathological changes occurring in the SVs, DP, and testes in some of the groups. Furthermore, as we had recently shown that a protein, LAO, which is found in snake venom (Du and Clemetson, 2002) and is associated with apoptosis (Ande *et al.*, 2006), was modulated in the adult rat VP due to treatment with antiandrogenic compounds (Cayatte *et al.*, 2006), we took the opportunity to further investigate this protein in the weanling animal.

Our gravimetric data correlated well with published data generated in both the castrated adult (Owens *et al.*, 2006, 2007; Yamasaki *et al.*, 2006, Takeyoshi *et al.*, 2005) and the TP-stimulated intact weanling (Ashby *et al.*, 2004). In addition, our histopathological observations recorded for the SVs and prostate were in agreement with the weight changes. Thus, TP

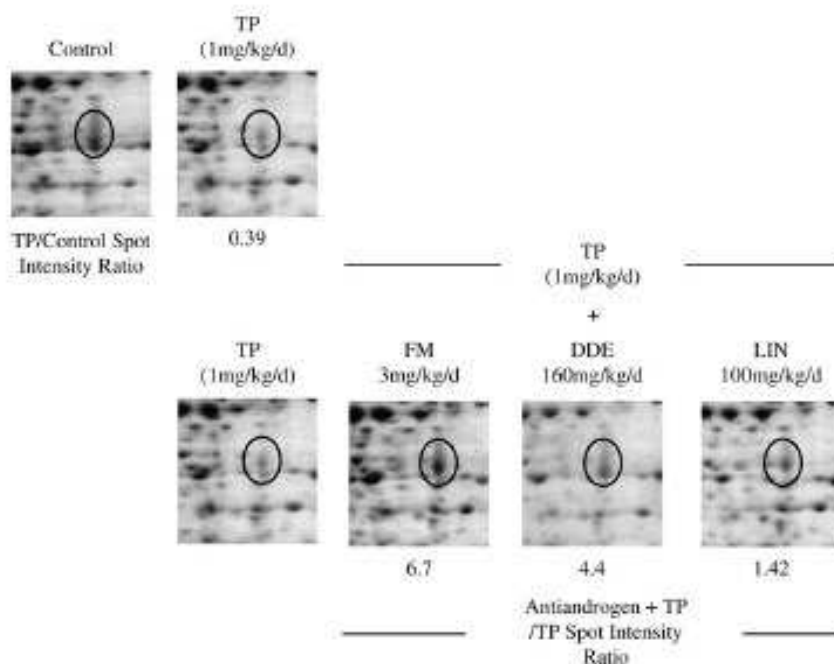


FIG. 4. Modulation of the LAO protein (ringed) was investigated in the VP of vehicle control animals and those animals exposed to either TP only or TP and 3 mg/kg/day FM (positive control), 160 mg/kg/day DDE, or 100 mg/kg/day LIN. The images are representative of the 2-DE analyses performed and illustrate the LAO previously identified by Cayatte *et al.* (2006). The spot intensities were compared first between the vehicle control and TP-only-treated groups. The intensities were then compared between the antiandrogen/TP and the TP-only-treated groups.

induced a characteristic stimulation of the SATs leading to significant weight increases and a precocious maturity of the SVs and prostate. Our positive control compound, FM, clearly inhibited the stimulatory effects of TP as evidenced by the significant SAT weight reductions and the control-like morphologies of the SVs and prostate.

Our DDE dose-response data for both liver and SAT weights were in agreement with earlier published data. Thus, our dose-

related increase in liver weight has been observed by several investigators (Freyberger *et al.*, 2005; You *et al.*, 1999) and has previously been shown to be related to increased cytochrome P450 enzyme activity (Hart and Fouts, 1963; Nims and Lubet, 1995) and hepatocellular hypertrophy (You *et al.*, 1999; Freyberger *et al.*, 2005). Similarly, our dose-related reductions in SAT weights have been reported for the stimulated weanling (Ashby *et al.*, 2004) as well the castrated adult rat (Freyberger *et al.*, 2005; Owens *et al.*, 2007). The control-like morphologies of the SVs and prostate of the TP/DDE (160 mg/kg/day) animals also confirmed the antiandrogenic activity of DDE.

Of the three antiandrogens evaluated, LIN had the greatest impact on body and kidney weight parameters with the significant decreases in both parameters following treatment with 100 mg/kg/day LIN, indicating that this dose was slightly toxic to the stimulated weanling. In addition, this compound was only weakly active as an antiandrogen as evidenced by the marginal weight reductions recorded for the SVs, VP, and Cowper's glands, which were statistically significant at the top dose level only (100mg/kg/day), the inability to reduce the weights of the stimulated LA/BC muscles and the lack of effect on the morphology of the stimulated SVs and prostate. Similar marginal weight effects were recorded by Ashby *et al.* (2004) for the TP-stimulated weanling model and by Owens *et al.* (2007) in the castrated adult rat. The LA/BC observations are of particular interest as there are conflicting reports concerning the effects of LIN on this tissue. For example, our data and those of

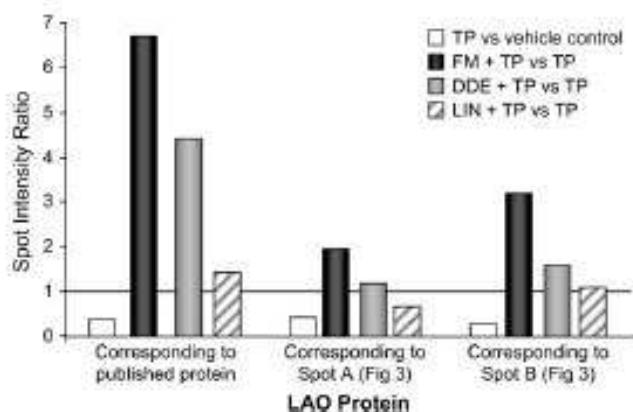


FIG. 5. Spot intensity ratios are given for each protein identified as LAO as shown in Figure 3. A ratio below 1 indicates a downregulation of LAO and a ratio above 1 indicates an upregulation of LAO due to treatment. No data are presented for spot C of Figure 3 as this spot was not present on all gels.

Ashby *et al.* (2004) demonstrated that LIN had no effect on the LA/BC. However, Lambright *et al.* (2000) observed a significant reduction in LA/BC weight in both the immature and adult castrated rat following 7 days treatment with 100 mg/kg/day LIN but found no effect if castrated adults were exposed for only 4 days. While these differences may merely be a reflection of the overall weak activity of LIN or a difference in the relative sensitivities of the castrated and intact animal, it could also be indicative of a mechanism of action other than AR antagonism for this compound as previously implied by Wolf *et al.* (1999). For example, the 5 α -reductase inhibitor, finasteride, can reduce the weights of the SVs and prostate, which are dependent on 5 α -dihydrotestosterone for growth, but it is unable to inhibit LA/BC growth (Blohm *et al.*, 1986).

Apart from the ethics, an apparent advantage of using the stimulated weanling rat rather than the castrated rat is that it should allow the evaluation of the testes and epididymides. Our data indicated that the epididymides were as sensitive as the SATs to the agonistic and antagonistic effects of TP and the antiandrogens, respectively. In contrast to the increase in SAT and epididymal weights following TP stimulation, the testes of the TP-treated animals were reduced in size and this atrophy corresponded with mild, though noticeable histological changes. These observations have been reported by several other investigators. For example, Yamasaki *et al.* (2000) reported a dose-related decrease in testicular weight, which was associated with histological changes in the testes in response to treatment of weanling rats with 17-methyl testosterone (17MT). Similarly, Wason *et al.* (2003) noted a reduction in testicular weight and associated histological changes following treatment of adult rats to 17MT. These inhibitory effects of testosterone on testicular growth may readily be explained by the fact that exposure to exogenous testosterone leads to a reduction in circulating LH, which in turn causes a decline in testosterone production by the Leydig cells and, therefore, a reduction in intratesticular testosterone concentration (Steinberger, 1971).

We recorded somewhat conflicting data for the effects of antiandrogens on the testes. Whereas interanimal variability was low for most of the tissues weighed, a high degree of interanimal variability was recorded for the testicular weights of the antiandrogen-treated stimulated weanlings, which meant that any weight increases were not statistically significant. Similar variability in testicular weight has also been noted by other investigators (Ashby *et al.*, 2004; Lefevre, personal communication). In addition to the weight variability, the severity of the testicular lesions was also contradictory. For example, although FM increased the testicular weight and reduced the severity of the lesions of most stimulated weanlings, the weights and lesions of two treated weanlings were more affected than the TP-only-exposed animals. Similarly, although DDE marginally increased the testicular weights, the severity of the lesions was marginally greater than those observed in the TP-only-exposed animals. Finally, the

weakest antiandrogen, LIN, reduced testicular weight and increased the severity of the testicular lesions compared to the TP-only-exposed tissues. Based on these observations, therefore, it would appear that the testis is not a suitable tissue to use for identifying EDCs in the stimulated weanling assay.

The use of molecular tools such as genomics and proteomics is becoming increasingly more commonplace in EDC investigations. For example, several studies investigating EDCs have included gene profiling of the VP (Rosen *et al.*, 2005; Yamada *et al.*, 2005) and the testes (Gye and Ohsako, 2003). More recently, we have conducted proteomic assessment of the VP (Cayatte *et al.*, 2006) and testes (Friry-Santini *et al.*, 2007) of adult rats exposed to antiandrogens. We demonstrated that a protein, LAO, found in snake venom (Du and Clemetson, 2002), was modulated in the adult prostate due to FM or finasteride treatment (Cayatte *et al.*, 2006). In these present studies, we extended this database by demonstrating the presence of LAO in the VP of our weanling control animals and its subsequent downregulation following treatment with TP (Figs. 3–5). Taking our control and TP weanling data and the control adult data of Cayatte *et al.* (2006) together, it would appear that LAO is negatively controlled by testosterone. Further evidence for this negative control is derived from the observation that treatment of the stimulated weanling with FM, DDE, or LIN led to an upregulation of LAO (compared to the TP-only observations) in the weanling VP, just as FM and finasteride led to the appearance of this protein in the adult VP (Cayatte *et al.*, 2006). As LAO is associated with apoptosis (Ande *et al.*, 2006), it seems reasonable to assume that the inhibition of such a protein would be required for the maturation and growth of the prostate during testosterone stimulation. Our weanling data also indicated that at least three additional isoforms of rat prostate LAO exist, which were similarly modulated by TP and the antiandrogens. The existence of isoforms of LAO derived from other species is well documented (Hayes and Wellner, 1969; Sun *et al.*, 2002). However, this is the first time that isoenzymes have been reported for the rat prostate protein.

In conclusion, our gravimetric (and histopathological) data indicate that in a study using only six animals per group, the TP-stimulated weanling assay is able to detect SAT and epididymal weight changes induced by both potent and weak antiandrogens. Our data also demonstrate that the sensitivity of the weanling assay is comparable to that of the adult rat Hershberger assay. Specifically, DDE induces significant antiandrogenic effects at the same dose level (50 mg/kg/day) in both the castrated adult (Owens *et al.*, 2007) and the intact weanling rat. Similarly, the weak antiandrogenic effects of LIN are only consistently detected in both animal models at 100 mg/kg/day. Our limited data also indicate that the weanling assay is reproducible as the magnitudes of the tissue weight increases induced by TP and the tissue weight decreases due to cotreatment with FM were similar between the two experiments described herein. However, the inconsistent testicular

data suggest that this tissue is of little value in the evaluation of EDCs in the stimulated weanling assay. Our LAO data gave us valuable insight into the modulation of this protein. The observation of at least three isoforms of this protein clearly demonstrates the need for further investigations to fully characterize LAO in the rat prostate. However, the rodent LAO data indicate that this protein has the potential to be a biomarker for endocrine disruption.

FUNDING

The European Chemical Industry Council Endocrine Modulators Steering Group (CEPIC EMSG).

REFERENCES

- Ade, S. R., Kommoju, P. R., Draxl, S., Murkovic, M., Macheroux, P., Ghisla, S., and Ferrando-May, E. (2006). Mechanisms of cell death induction by L-amino acid oxidase, a major component of ophiidian venom. *Apoptosis* **11**, 1439–1451.
- Ashby, J., and Lefevre, P. (1997). The weanling rat as an assay for endocrine disruption: Preliminary findings. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **31**, 92–105.
- Ashby, J., and Lefevre, P. (2000). The peripubertal male rat assay as an alternative to the Hershberger castrated male rat assay for the detection of anti-androgens, oestrogens and metabolic modulators. *J. Appl. Toxicol.* **20**, 35–47.
- Ashby, J., Lefevre, P. A., Tinwell, H., Odum, J., and Owens, W. (2004). Testosterone stimulated weanlings as an alternative to castrated male rats in the Hershberger anti-androgen assay. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **39**, 229–238.
- Ashby, J., Owens, W., and Lefevre, P. (2002). Concept evaluation: Androgen-stimulated immature intact male rats as an assay for antiandrogens. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **35**, 280–285.
- Böhm, T. R., Laughlin, M. E., Benson, H. D., Johnston, J. O., Wright, C. L., Schatzman, G. L., and Weintraub, P. M. (1986). Pharmacological induction of 5 α -reductase deficiency in the rat: Separation of testosterone mediated and 5 α -dihydrotestosterone-mediated effects. *Endocrinology* **119**, 959–966.
- Cayatte, C., Pons, C., Guigonis, J. M., Pizzol, J., Elies, L., Kennel, P., Rouquie, D., Bars, R., Rossi, B., and Sanson, M. (2006). Protein profiling of rat ventral prostate following chronic finasteride administration: Identification and localization of a novel putative androgen-regulated protein. *Mol. Cell Proteomics* **5**, 2031–2043.
- Du, X.-Y., and Clemenson, K. J. (2002). Snake venom l-amino acid oxidases. *Toxicol.* **40**, 659–665.
- Freyberger, A., Hartmann, E., and Krottinger, F. (2005). Evaluation of the rodent Hershberger bioassay using three reference (anti-)androgens. *Arch. Hig. Radz. Toksikol.* **56**, 131–139.
- Friy-Santini, C., Rouquie, D., Kennel, P., Tinwell, H., Benahmed, M., and Bars, R. (2007). Correlation between protein accumulation profiles and conventional toxicological findings using a model antiandrogenic compound, flutamide. *Toxicol. Sci.* **97**, 81–93.
- Greene, R. R., and Burrill, M. W. (1940). Twenty-four hour response to androgens in the immature male rat. *Toxicol. Ind. Health* **15**, 94–118.
- Greene, R. R., and Burrill, M. W. (1941). Forty-eight hour response of the immature male rat to androgens. *Endocrinology* **29**, 402–408.
- Gye, M. C., and Oshako, S. (2003). Effects of flutamide in the rat testis on the expression of occluding, an integral member of the tight junctions. *Toxicol. Lett.* **143**, 217–222.
- Hart, L. G., and Fouts, J. R. (1963). Effects of acute and chronic DDT administration on hepatic microsomal drug metabolism in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **114**, 388–392.
- Hayes, M. B., and Wellner, D. (1969). Microheterogeneity of L-amino acid oxidase. *J. Biol. Chem.* **244**, 6636–6644.
- Kang, I. H., Kim, H. S., Shin, J. H., Kim, T. S., Moon, H. J., Kim, I. Y., Choi, K. S., Kih, K. S., Park, Y. I., Dong, M. S., et al. (2004). Comparison of antiandrogenic activity of flutamide, vinclozolin, procymidone, linuron, and p,p'-DDE in rodent 10-day Hershberger assay. *Toxicology* **199**, 145–159.
- Kanno, J., Onyon, L., Haseman, J., Fenner-Crisp, P., Ashby, J., and Owens, W. (2001). The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay to screen compounds for *in vivo* estrogenic responses: Phase 1. *Environ. Health Perspect.* **109**, 785–794.
- Kanno, J., Onyon, L., Pedlada, S., Ashby, J., Jacob, E., and Owens, W. (2003). The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay. Phase 2: Dose-response studies. *Environ. Health Perspect.* **111**, 1530–1549.
- Kelce, W. R., Stone, C. R., Laws, S. C., Gray, L. E., Kemppainen, J. A., and Wilson, E. M. (1995). Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* **375**, 581–585.
- Lambright, C., Ostby, J., Bobseine, K., Wilson, V., Hotchkiss, A. K., Mann, P. C., and Gray, L. E., Jr (2000). Cellular and molecular mechanisms of action of linuron: An antiandrogenic herbicide that produces reproductive malformations in male rats. *Toxicol. Sci.* **56**, 389–399.
- Marty, M. S., Crissman, J. W., and Carney, E. N. (2001). Evaluation of the male rat pubertal onset to detect testosterone and steroid inhibitors in CD rats. *Toxicol. Sci.* **60**, 285–295.
- Monosson, E., Kelce, W. R., Lambright, C. R., Ostby, J., and Gray, L. E., Jr (1999). Peripubertal exposure to the antiandrogenic fungicide, vinclozolin, delays puberty, inhibits the development of androgen-dependent tissues and alters androgen receptor function in the male rat. *Toxicol. Ind. Health* **15**, 65–79.
- Nims, R. W., and Lubet, R. A. (1995). Induction of cytochrome P-450 in the Norway rat, *Rattus norvegicus*, following exposure to potential environmental contaminants. *J. Toxicol. Environ. Health* **46**, 271–292.
- Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). (2000). OECD protocol for investigating the efficacy of the enhanced TG407 test guideline (phase 2); rationale for the investigation and description of the protocol. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.
- Olsson, I., Larsson, K., Palmgren, R., and Bjellqvist, B. (2002). Organic disulfides as a means to generate streak-free two-dimensional maps with narrow range basic immobilized pH gradient strips as first dimension. *Proteomics* **2**, 1630–1632.
- Owens, W., Gray, L. E., Jr, Zeiger, E., Walker, M., Yamasaki, K., Ashby, J., and Jacob, E. (2007). The OECD program to validate the rat Hershberger bioassay to screen compounds for *in vivo* androgen and antiandrogen responses. Phase 2: Dose response studies. *Environ. Health Perspect.* **115**, 671–678.
- Owens, W., Zeiger, E., Walker, M., Ashby, J., Onyon, L., and Gray, L. E., Jr (2006). The OECD program to validate the rat Hershberger bioassay to screen compounds for *in vivo* androgen and antiandrogen responses. Phase 1: Use of a potent agonist and a potent antagonist to test the standardized protocol. *Environ. Health Perspect.* **114**, 1259–1265.
- Ramagli, L. S., and Rodriguez, L. V. (1985). Quantitation of microgram amounts of protein in two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis sample buffer. *Electrophoresis* **6**, 559–563.
- Rosen, M. B., Wilson, V. S., Schmid, J. E., and Gray, L. E. (2005). Gene expression analysis in the ventral prostate of rats exposed to vinclozolin or procymidone. *Reprod. Toxicol.* **19**, 367–379.
- Steinberger, E. (1971). Hormonal control of mammalian spermatogenesis. *Physiol. Rev.* **51**, 1–22.

- Stoker, T. E., Parker, L. G., Gray, L. E., and Cooper, R. L. (2000). Endocrine disrupting chemicals: Prepubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid function in the male rat. A focus on EDSTAC recommendations. *Crit. Rev. Toxicol.* **30**, 197-252.
- Sun, Y., Nomobe, E., Kobayashi, Y., Kurashii, T., Aoki, F., Yamamoto, K., and Sakai, S. (2002). Characterization and expression of L-amino acid oxidase of mouse milk. *J. Biol. Chem.* **277**, 19080-19086.
- Takeyoshi, M., Mitoma, H., and Yamasaki, K. (2005). Changes in serum alpha2u-globulin levels in castrated male rats treated with testosterone propionate in a Hershberger assay. *J. Appl. Toxicol.* **25**, 176-178.
- Wason, S., Pohlmeier-Esch, G., Pallen, C., Palazzi, X., Espuna, G., and Bars, R. (2003). 17 α -methyltestosterone: 28-day oral toxicity study in the rat based in the "enhanced OECD test guideline 407" to detect endocrine effects. *Toxicology* **192**, 119-137.
- Wolf, C., Lambricht, C., Mann, P., Price, M., Cooper, R. L., Osby, J., and Gray, L. E., Jr (1999). Administration of potentially antiandrogenic pesticides (procymidone, imidacloprid, chlorzoxinate, p,p'-DDE and ketoconazole) and toxic substance (dibutyl- and diethylhexyl phthalate, PCB 169 and ethane dimethane sulphamate) during sexual differentiation produces diverse profiles of α -productive malformations in the male rat. *Toxicol. Ind. Health* **15**, 94-118.
- Yamada, T., Sumida, K., Saito, K., Ueda, S., Yahushita, S., Sakata, T., Kawamura, S., Okuno, Y., and Seki, T. (2005). Functional genomics may allow accurate categorization of the benzimidazole fungicide benomyl: Lack of ability to act via steroid receptor mediated mechanisms. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **205**, 11-30.
- Yamasaki, K., Ashby, J., Lefevre, P. A., and Sawaki, M. (2000). Comparison of reproductive tissue weights in the enhanced Hershberger assay of 17 α -methyltestosterone between prepubertal and castrated rats. *J. Toxicol. Pathol.* **13**, 173-178.
- Yamasaki, K., Ohta, R., and Okuda, H. (2006). OECD validation of the Hershberger assay in Japan: Phase 3. Blind study using coded chemicals. *Toxicol. Lett.* **163**, 121-129.
- You, L., Chun, S. K., Bruce, J. M., Archibeque-Engle, S., Casanova, M., Corton, J. C., and Heck, H.d'A. (1999). Impaired male sexual development in perinatal Sprague-Dawley and Long Evans hooded rats exposed in utero and lactationally to p,p'-DDE. *Toxicol. Sci.* **45**, 162-173.

❧ **MATERIELS & METHODES** ❧

1. Analyse Protéomique

Les protocoles nécessaires à la mise en place d'une approche protéomique diffèrent selon le type d'échantillon étudié et nécessitent de nombreuses mises au point. Bien que de nombreux protocoles soient disponibles dans la littérature, ils doivent toujours être adaptés au type d'échantillon analysé pour une optimisation des résultats. Sont décrits ici les protocoles optimisés pour nos conditions d'analyse.

1.1 Préparation des extraits protéiques totaux

La préparation des extraits protéiques est une étape importante car la qualité de la séparation des protéines en dépend. Idéalement, les protéines de l'échantillon doivent être entièrement solubilisées, dissociées et dénaturées (Rabilloud 1999). Pour extraire de manière optimale les protéines des échantillons de testicules, un protocole d'extraction a été mis au point à partir d'agents compatibles avec les différentes étapes de l'analyse protéomique.

Les échantillons de testicules sont broyés à l'aide d'un homogénéisateur de Dounce dans un tampon de lyse [urée 7 M, thiourée 2 M, CHAPS 4 % (p/v), triton X-100 0,24 % (v/v)]. De la spermine et du dithiothréitol (DTT) sont ajoutés à la solution de lyse juste avant homogénéisation, à une concentration finale de 20 mM et 50 mM respectivement. Après 1h d'incubation, 100 mM d'iodoacétamide (IAA) sont ajoutés. Après 3h d'incubation à l'abri de la lumière, l'homogénat est centrifugé 15 min à 15 000x g. La fraction surnageant correspond à l'extrait protéique total.

L'urée (détergent non ionique) permet de solubiliser et dénaturer les protéines en interagissant avec les liaisons faibles et en diminuant les interactions hydrophobes. Dans ces conditions, les structures secondaires et tertiaires des protéines sont désorganisées et les protéines exposent alors leurs résidus hydrophobes au solvant. L'ajout de CHAPS (détergent zwitterionique) et de triton X-100 (détergent non ionique) permet d'éviter la précipitation des protéines ainsi dénaturées. En effet, ces détergents stabilisent la dénaturation en se liant aux parties hydrophobes des protéines par leur extrémité polaire et aux molécules d'eau du

solvant par leur extrémité apolaire. La solubilisation des protéines est améliorée par l'ajout de thiourée (Rabilloud 1998). Son pouvoir dénaturant est plus fort que l'urée mais étant très peu soluble dans l'eau, il est toujours utilisé en association avec l'urée. Le rendement de l'extraction est amélioré par l'ajout de l'agent réducteur, le dithiothréitol (DTT) qui rompt les ponts disulfures intra- et inter- chaînes, et de la iodoacétamide (IAA), agent d'alkylation des thiols libres, qui stabilise les réductions réalisées par le DTT. La spermine permet quant à elle de précipiter l'ADN présent dans l'échantillon, éliminé par centrifugation.

1.2 Dosage protéique

La concentration en protéines des extraits est déterminée suivant la méthode de Bradford (Bradford 1976; Ramagli and Rodriguez 1985). Cette méthode repose sur la modification de la longueur d'onde maximale d'absorption du bleu de Coomassie G250 lors de sa fixation aux protéines (de 460 à 595 nm). Ce dosage est réalisé à partir d'un réactif [bleu de Coomassie G-250 0.01 % (p/v), éthanol absolu 5 % (v/v), acide phosphorique 8.5 % (v/v)], et d'une gamme étalon (0 à 5 mg/ml) de BSA (Bovin Serum Albumine). La gamme étalon et les extraits protéiques, dilués au 1/6ème, sont réalisés avec le tampon de lyse. L'échantillon protéique est repris avec du HCl 0.1N (v/v) et de l'eau (8v/v), auquel le réactif est ajouté (35v/v). La densité optique est mesurée à 595 nm.

1.3 Electrophorèse bidimensionnelle

L'électrophorèse bidimensionnelle (2-DE), décrite par O Farrell (O'Farrell 1975), est une méthode combinant deux séparations séquentielles en gel de polyacrylamide : une séparation des protéines en fonction de leur charge ou point isoélectrique, suivie d'une séparation en fonction de leur masse moléculaire. Cette technique est très résolutive et permet de séparer simultanément plusieurs centaines de protéines différentes, donnant ainsi un aperçu global du contenu protéique d'un tissu, organe ou d'une cellule.

1.3.1 Isoélectrofocalisation

La première dimension, appelée isoélectrofocalisation (IEF), consiste à séparer les protéines en fonction de leur charge, en présence de détergents ne modifiant pas la charge des protéines.

Les protéines sont des molécules amphotères, c'est à dire qu'elles portent soit des charges positives, négatives ou aucune charge nette, en fonction du pH de la solution dans laquelle elles se trouvent. Le point isoélectrique (pI) d'une protéine correspond au pH spécifique où sa charge nette est nulle. Une protéine est chargée positivement à un pH inférieur à son pI et négativement à un pH supérieur (Figure 52 A). En solution, les protéines sont chargées et lorsqu'on les soumet à un gradient de pH sous l'influence d'un champ électrique elles vont migrer jusqu'à la position dans le gradient où leur charge nette est nulle (Figure 52 B). Ainsi l'IEF concentre les protéines à leur pI et permet de les séparer selon des toutes petites différences de charges. Cette méthode permet également de discriminer des protéines qui auraient subi une mutation ou une modification post-traductionnelle, changeant ainsi leur charge électrique. Une dénaturation et une solubilisation complète de l'extrait protéique permet d'avoir chaque protéine en une seule configuration et permet de minimiser les agrégations et interactions intermoléculaires, lors de l'IEF.

L'IEF est réalisée sur des bandelettes de gel précoulé à gradient de pH immobilisé (IPG). Ces gradients, développés par Bjellqvist et collaborateurs (Bjellqvist *et al.* 1982), font partie intégrante du gel de polyacrylamide. Ils sont obtenus à partir de dérivés de l'acrylamide tamponnée, les immobilines, qui sont co-polymérisées avec les monomères d'acrylamide dans le gel de polyacrylamide. Ces gradients de pH sont stables et permettent une séparation très reproductible des protéines.

Les gels de première dimension (IPG strip) sont déshydratés sur un film en plastique rigide et recouverts d'un film plus souple. Ils sont de dimensions variables et couvrant différentes gammes de pH. Pour nos analyses protéomiques, nous avons utilisé des strips de pH 5-8, 17 cm (ReadyStrip IPG, BioRad). Cette gamme de pH présente l'avantage de couvrir la grande majorité des protéines exprimées dans le testicule et offre ainsi une meilleure résolution de séparation par rapport à une gamme de pH plus large.

L'échantillon protéique est préparé à une concentration constante (400 µg) dans 400 µl de tampon de réhydratation [urée 7 M, thiourée 2 M, CHAPS 4 %, triton X-100 0,24 %, DTT 50 mM, ampholytes pH 3-10 0,6 %, ampholytes pH 5-8 0,3 %] contenant une trace de bleu de bromophénol permettant de vérifier la séparation électrophorétique des protéines au cours de l'IEF. Les ampholytes (Bio-Lyte Ampholyte, BioRad), petits groupements acides et basiques, permettent d'améliorer la solubilité des protéines et assurent une conductivité uniforme au cours de la focalisation. Chaque homogénat est réparti uniformément dans une rangée de la chambre de réhydratation (Rehydration Tray, BioRad) puis recouvert par les strips, auxquels on aura préalablement enlevé le film en plastique souple, le gel au contact des extraits, en évitant les bulles d'air. Pour éviter toute évaporation, de l'huile minérale est ajoutée sur chaque strip. Les IPG strips réhydratées de façon passive pendant 22 h à 20 °C,

en présence de l'extrait protéique. Cette méthode de réhydratation permet l'analyse d'échantillons concentrés tout en évitant les problèmes de précipitation.

L'IEF est ensuite réalisée horizontalement à l'aide du système Protean IEF Cell de BioRad. Les strips sont placés dans une cassette d'électrofocalisation (Focusing Tray, BioRad), le gel en contact du support et l'extrémité acide du côté de l'anode. Des petits papiers filtres, réhydratés avec de l'eau milli-Q, sont au préalable placés à chaque extrémité au niveau des électrodes. Ces papiers ont pour but de faciliter le passage du courant entre l'électrode et le gel et absorbent les sels des extraits susceptibles de perturber la migration des protéines. Les strips sont ensuite recouverts d'huile minérale. La cassette est placée dans la chambre thermo-régulée du Protean IEF Cell. En solution, l'urée peut former du cyanate d'ammonium, très réactif au niveau des fonctions amine des protéines, et pouvant provoquer des réactions de carbamylation, modifiant les charges nettes des protéines. Pour éviter ce phénomène, favorisé par des températures élevées, l'étape d'IEF est thermo-régulée à 20°C. L'IEF s'effectue sous un voltage progressif : 50 V, 2 heures ; 250 V, 15 minutes suivi par une augmentation lente (5h) du voltage jusqu'à 10 000 V. La focalisation se poursuit à 10 000 V jusqu'à atteindre 80 000 Vh. Au terme de cette étape, les protéines sont réparties dans les gels en fonction de leurs points isoélectriques. Jusqu'à 12 réhydratations et focalisations peuvent être effectuées simultanément avec ce système.

1.3.2 Equilibration en SDS

A l'issue de l'IEF, les protéines sont équilibrées selon la méthode décrite par Gorg (Gorg *et al.* 2000). Cette étape permet de saturer les strips avec du sodium-dodécyl-sulfate (SDS) et, est nécessaire à la séparation des protéines en seconde dimension. Le SDS (détergent anionique) dénature les protéines et forme des complexes SDS-protéine chargés négativement. Il se lie aux protéines avec approximativement le même ratio (1,4 mg de SDS par mg de protéine). Ainsi, sous l'action d'un courant électrique, la migration des protéines de l'échantillon s'effectuera vers l'anode et la mobilité électrophorétique des protéines dépendra seulement de leur masse moléculaire (Laemmli 1970).

Les strips sont équilibrés dans deux tampons successifs [tris-HCl (pH 8,8) 0.375 M, urée 6 M, SDS 4 % (p/v), Glycérol 20 % (v/v)] additionnés de DTT 65 mM ou d'IAA 135 mM pendant 30 et 40 minutes respectivement, sous agitation douce. Afin d'empêcher toute précipitation des protéines, dénaturées par le SDS et réduites par le DTT, dans les gels de première dimension, les thiols libres sont stabilisés par l'agent d'alkylation, IAA. L'urée et le glycérol permettent de prévenir les phénomènes d'électro-endosmose, en augmentant la viscosité du tampon. Ils améliorent ainsi le transfert des protéines des strips vers les gels de

seconde dimension. Une trace de bleu de bromophénol est ajoutée au deuxième tampon d'équilibration, afin de suivre la migration de deuxième dimension.

1.3.3 Séparation des protéines en gel SDS-PAGE

La seconde dimension est effectuée verticalement en gels SDS-PAGE [acrylamide/bis acrylamide 10 % (v/v), tris-HCl (pH 8,8) 375 mM, SDS 0.1 %, persulfate d'ammonium 0.05 % (p/v), temed 0.05 % (v/v)]. Les gels sont préparés dans le système de coulage Ettan DaltSix Gel Caster (Amersham), en prenant soin de laisser un espace d'environ 5 cm en haut des gels. Un gel de concentration « stacking gel » [acrylamide/bis acrylamide 4 % (v/v), tris-HCl (pH 6,8) 125 mM, SDS 0.1 %, persulfate d'ammonium 0.05% (p/v), temed 0.1 % (v/v)] est ajouté en haut du gel de séparation, afin de permettre une concentration des protéines avant la migration en deuxième dimension. Les strips, équilibrés en SDS, sont mis au contact et scellés avec le gel d'acrylamide grâce à une solution contenant 1 % (p/v) d'agarose à bas point de fusion dilué dans du tampon de migration. Après solidification de l'agarose, des marqueurs de taille (Broad range, BioRad) sont déposés dans un puits réalisé sur un des côtés du gel. L'électrophorèse est ensuite réalisée à 10°C, dans le système Ettan DaltSix (Amersham) couplé à un système de contrôle de la température (MultiTemp, Amersham) en présence d'un tampon d'électrophorèse [tris base 25 mM, glycine 192 mM, SDS 0.1 % (p/v)]. La migration s'effectue pendant 30 minutes à 5 Watts constants par gel puis à 12,5 Watts constants par gel (PowerPac 1000, BioRad) jusqu'à ce que le fond de migration, visualisé par un front bleu, arrive en bas du gel. Jusqu'à 6 séparations électrophorétiques peuvent être réalisées avec ce système.

1.4 Coloration des gels

Les gels sont colorés au bleu de Coomassie colloïdal G-250 prêt à l'emploi (Simply Blue, Invitrogen). L'étape préliminaire de fixation des protéines dans le gel n'est pas nécessaire avec cette méthode. Le seuil de détection des protéines colorées au bleu de Coomassie est de l'ordre de 100 ng. Cette coloration présente l'avantage d'être très simple de réalisation, reproductible et compatible avec les analyses ultérieures par spectrométrie de masse.

Les gels sont rincés 3 fois 5 minutes avec de l'eau Milli-Q afin d'éliminer le SDS et les sels pouvant interférer avec la fixation du colorant aux protéines. Les gels sont colorés pendant 16 heures dans une solution de Bleu de Coomassie prête à l'emploi, à laquelle on

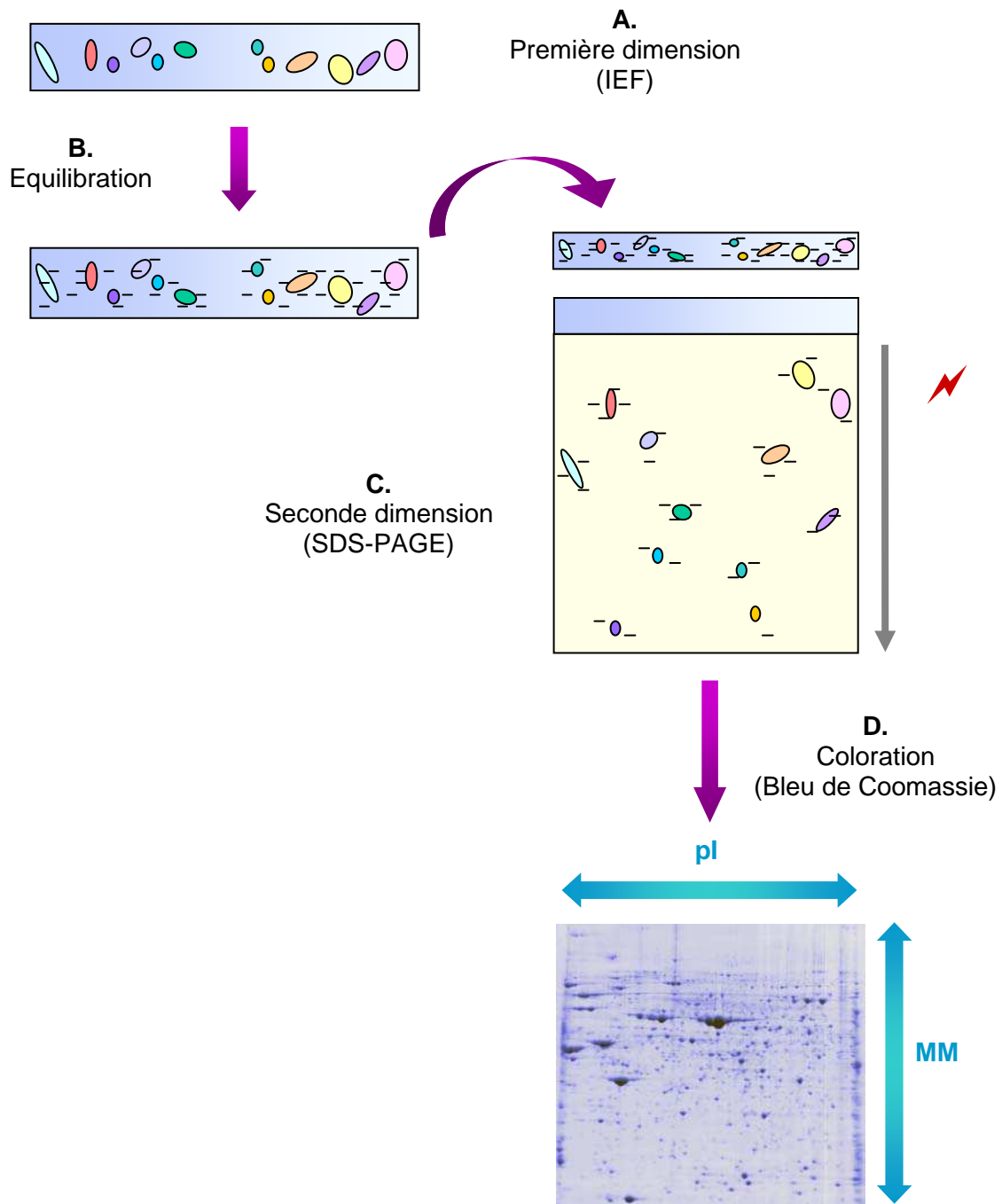


Figure 53 : Schéma représentant les principales étapes de la technique d'électrophorèse bidimensionnelle (2-DE)

A. Séparation des protéines en fonction de leur charge au cours de l'IEF.

B. Equilibration en SDS, réduction des ponts disulfure par le DTT et blocage des SH libres par la IAA.

C. Séparation des protéines en fonction de leur masse dans une seconde dimension en gel SDS-PAGE.

D. Coloration des protéines par une solution de Bleu de Coomassie.

aura rajouté du NaCl (2 % final) afin d'augmenter la sensibilité de coloration. Les gels sont ensuite rincés avec de l'eau mili-Q pendant 3 heures puis 1 heure afin d'éliminer le bruit de fond. Les gels sont conservés à 4°C dans une solution contenant de l'acide acétique 5 %. Ils pourront également être séchés à température ambiante entre feuilles de cellophane (BioRad) après une incubation de 15 minutes dans une solution de séchage [éthanol 30 % (v/v) et glycérol 5 % (v/v)] pour archives.

La figure 53 résume les grandes étapes de la technique d'électrophorèse bidimensionnelle.

1.5 Analyse des gels 2-DE

Afin de déterminer les modifications du niveau d'accumulation des protéines, les images des gels bidimensionnels sont analysées en utilisant le logiciel PDQuest (version 7.2, BioRad).

1.5.1 Acquisition de l'image

Les gels colorés au bleu de Coomassie sont scannés à l'aide d'un densitomètre (GS-800, Biorad). Les paramètres d'acquisition de l'image sont réglés par l'intermédiaire du logiciel PDQuest et l'acquisition de l'image s'effectue en 3 étapes (Figure 54). Le type de gel à scanner est sélectionné, ici « Coomassie blue » afin que le logiciel applique les filtres et paramètres adaptés lors de l'acquisition de l'image. Grâce à une étape de prévisualisation, la zone d'intérêt à scanner, correspondant au gel entier, est sélectionnée. La résolution de l'acquisition est définie par défaut puis le gel est scanné.

1.5.2 Analyse quantitative avec le logiciel PDQuest

Les cartes bidimensionnelles des protéines testiculaires de rats contrôles et traités sont analysées et comparées par le logiciel PDQuest. Les protéines sont quantifiées afin de rechercher d'éventuelles variations de leur niveau d'accumulation suite au traitement. Ce logiciel convertit un signal provenant de données biologiques en données numériques et décompose chaque objet détecté (spot) en un certain nombre de pixels qui le représentent. PDQuest attribue à chaque pixel des coordonnées x, y et une valeur z. Les coordonnées x et

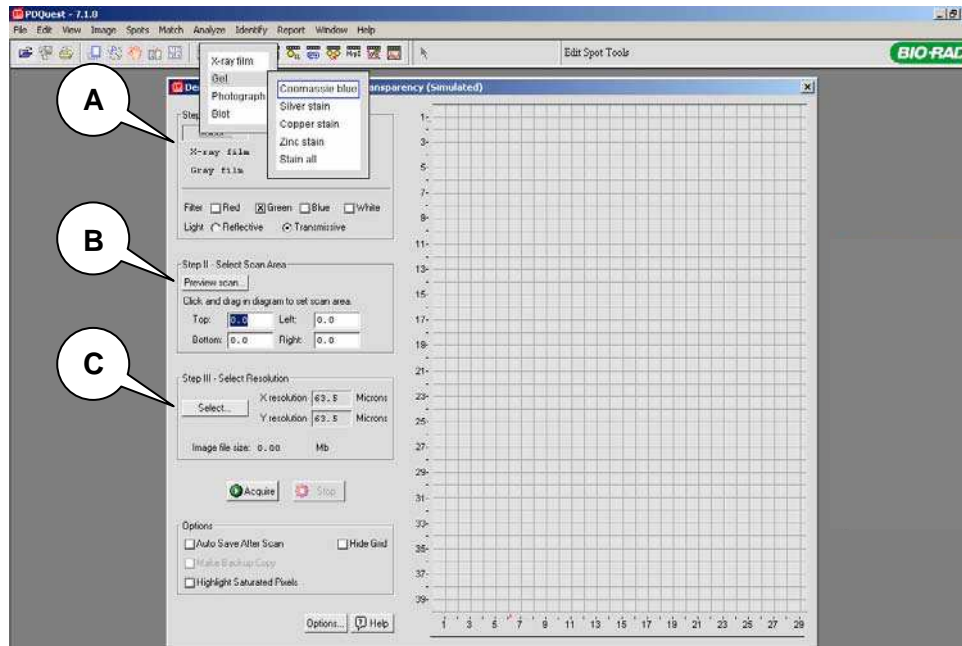


Figure 54 : Acquisition d' image par le logiciel PDQuest

Les gels colorés au bleu de Coomassie sont scannés à l' aide d' un densitomètre (GS-800, Biorad). Trois étapes sont nécessaires à l' acquisition de l' image: choix du type de gel à scanner (A), prévisualisation du gel (B) et choix de la résolution (C).

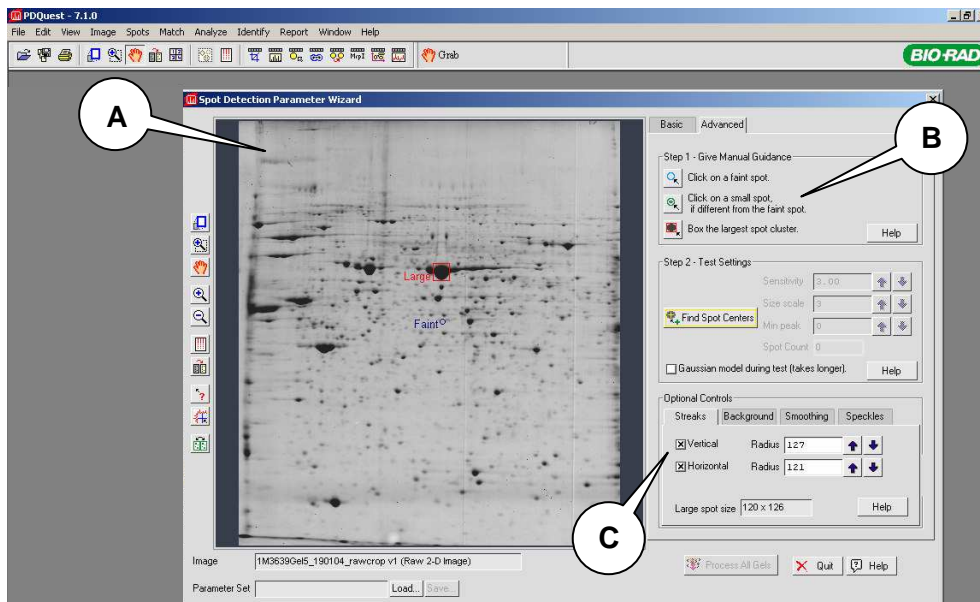


Figure 55 : Détection des spots protéiques par le logiciel PDQuest

La détection s' effectue sur le gel le plus représentatif de l' analyse (A). Les spots de plus faible intensité, de plus petite et de plus grande taille sont localisés (B). La sélection de l' option « exclusion de traînées » (C) permet d' exclure de la détection des spots inclus dans des traînées verticales et horizontales.

y représentent la position du pixel sur un axe horizontal et vertical et la valeur z représente l'intensité du pixel. Cette dernière valeur permet de quantifier chaque spot en groupant les pixels qui les composent. L'intensité du signal moyen d'un spot est calculée en additionnant les valeurs d'intensité de chaque pixel du spot et en divisant le total par le nombre de pixels composant ce spot. Pour qu'un spot soit visible et quantifiable, il faut que l'intensité totale de ce spot soit supérieure à l'intensité des pixels qui représentent le bruit de fond de l'image.

Pour effectuer la comparaison quantitative des gels scannés, l'analyse par le logiciel PDQuest nécessite plusieurs étapes dont certaines sont automatiques et d'autres doivent être validées et complétées par l'utilisateur.

1.5.2.1 Détection automatique des spots

Tout d'abord, on définit les paramètres permettant au programme de fixer un seuil de détection. Sur le gel sélectionné comme étant le plus représentatif, on positionne le spot de plus faible intensité, le spot de plus petite et de plus grande taille ainsi qu'une zone représentative du bruit de fond (Figure 55). L'option d'exclusion de traînées verticales et horizontales est également sélectionnée. Après avoir vérifié que le nombre total de spots détectés est raisonnable (environ 2000), la détection automatique est lancée sur l'ensemble des gels de l'analyse. A cette étape, le logiciel crée pour chaque gel 3 images distinctes : l'image d'origine, correspondant à l'image brute (.sc), une image filtrée (.gim) où les spots apparaissent clarifiés et une image gaussienne (.gsp) qui est une image virtuelle contenant des spots gaussiens. PDQuest utilise le modèle gaussien afin de créer des spots facilement identifiables et quantifiables. Ce modèle permet ainsi la quantification de spots superposés ou localisés dans des traînées. Toutes les quantifications et analyses des spots s'effectuent à partir des images gaussiennes de chaque gel.

Après la détection automatique des spots, une étape de "nettoyage" manuelle est nécessaire. En effet, des traînées, des bulles et des poussières peuvent être également détectées comme des spots et il est nécessaire de les éliminer.

1.5.2.2 Appariement des spots

Cette étape, aussi appelée « matching », consiste à associer, sur les différents gels inclus dans l'analyse, les spots identiques retrouvés sur chaque gel. Ceci est effectué automatiquement mais nécessite que l'utilisateur définisse des points d'ancrage (ou "landmarks") qui permettent au programme de fixer des points de repère et de compenser

d'éventuelles déformations des gels. Cependant, dans les zones contenant beaucoup de spots, il est parfois nécessaire de corriger manuellement certaines erreurs d'appariement du logiciel. Un des gels de l'analyse, généralement un gel contrôle et le mieux résolu, est désigné comme gel de référence. Ce gel va permettre de créer un gel virtuel, ou gel "master", regroupant les données de tous les spots des gels de l'analyse.

Une fois que le logiciel a apparié la totalité des spots, l'analyse quantitative peut être réalisée à partir du gel « master ».

1.5.2.3 Normalisation

Une certaine variabilité dans la taille des spots ou de leur intensité peut être due à des facteurs expérimentaux (perte d'échantillon au cours des préparations, mauvais transfert des protéines de la première vers la deuxième dimension, variation de temps de coloration des gels, température ambiante, etc.). Afin d'effectuer une comparaison fiable des taux d'accumulation des protéines, il faut pouvoir compenser ces variations indépendantes du contexte biologique. Pour cela, une normalisation est réalisée. Il existe plusieurs manières de normaliser les gels: par rapport à un groupe de spots dont on sait que l'intensité ne varie pas, par rapport à la densité totale du gel ou par rapport à l'ensemble des spots valides. Ne connaissant pas les spots invariants, nous avons choisi de normaliser par rapport à la densité totale des gels. Cette méthode suppose que la densité totale d'une image (c'est-à-dire, la densité du bruit de fond plus la densité des spots) est relativement constante d'un gel à un autre. Cette méthode de normalisation est préconisée lorsque peu d'informations, sur la ou les sources de variation, sont connues.

1.5.2.4 Analyses statistiques des données

La totalité des informations de chaque spot détecté (surface, densité, quantité) est regroupée sur le gel "master". Par des analyses statistiques proposées par le logiciel (t-Test, Mann Whitney), nous avons pu mettre en évidence les protéines dont le niveau d'accumulation varie de manière significative d'une condition à une autre. Pour ce faire, nous avons tout d'abord créé des groupes de répliquat. En effet, dans nos analyses, plusieurs gels correspondent au même échantillon (répliquat technique) ou à la même condition expérimentale (répliquat biologique). Le fait de grouper ces gels permet d'obtenir une valeur moyenne de la quantité de chaque spot présent sur ces gels. Une analyse statistique par

t-Test nécessite au moins 2 gels par groupe, alors qu'une analyse par Mann-Whitney en nécessite au moins 4.

1.6 Prélèvements et traitements des spots d'intérêts

Une fois que les spots d'intérêt sont localisés sur les gels bidimensionnels, ils sont excisés manuellement des gels 2-DE colorés au bleu de Coomassie puis décolorés à l'aide d'acétonitrile à 50 % et de bicarbonate d'ammonium 25mM. Dans le cas où un spot d'intérêt est de faible intensité, il peut être prélevé sur plusieurs gels afin d'augmenter la quantité de peptides et donc améliorer l'identification de la protéine. Les morceaux de gels sont broyés dans les tubes Eppendorf à l'aide d'un piston, déshydratés à l'aide d'acétonitrile et d'un speed vac, puis réhydratés avec du bicarbonate d'ammonium 25 mM additionné de trypsine (5 ng/μl) pendant 16 heures à 37°C. La trypsine permet la digestion de la protéine dans le morceau de gel. Cette enzyme réalise des clivages à l'intérieur des chaînes polypeptidiques après les acides aminés Lysine et Arginine. Les fragments peptidiques, issus de cette digestion, sont extraits du gel par incubations successives de 15 min en présence d'acide formique 5 %, puis d'acétonitrile 50 % et enfin d'acétonitrile 80 %. Une sonication est également effectuée pendant ces étapes afin de faciliter l'extraction. Les extraits sont récupérés, évaporés et resuspendus avec une solution d'acide formique 5 % / méthanol 20 %, prêts à être analysés par spectrométrie de masse. La figure 56 A résume les principales étapes de prélèvement et de traitement des spots d'intérêt en vue d'une analyse par spectrométrie de masse.

1.7 Analyse des protéines par spectrométrie de masse

La façon la plus facile et la plus rapide d'identifier une protéine est l'analyse de son « empreinte de masse peptidique ». Les peptides, issus de la digestion enzymatique d'une protéine, sont soumis à une analyse par spectrométrie de masse. La masse de chaque peptide est représentée par un pic, l'ensemble des pics du mélange peptidique analysé forme un spectre ou « empreinte de masse peptidique ». Ce spectre est ensuite comparé à des masses théoriques de séquences référencées dans des banques de données permettant de donner un nom à la protéine analysée.

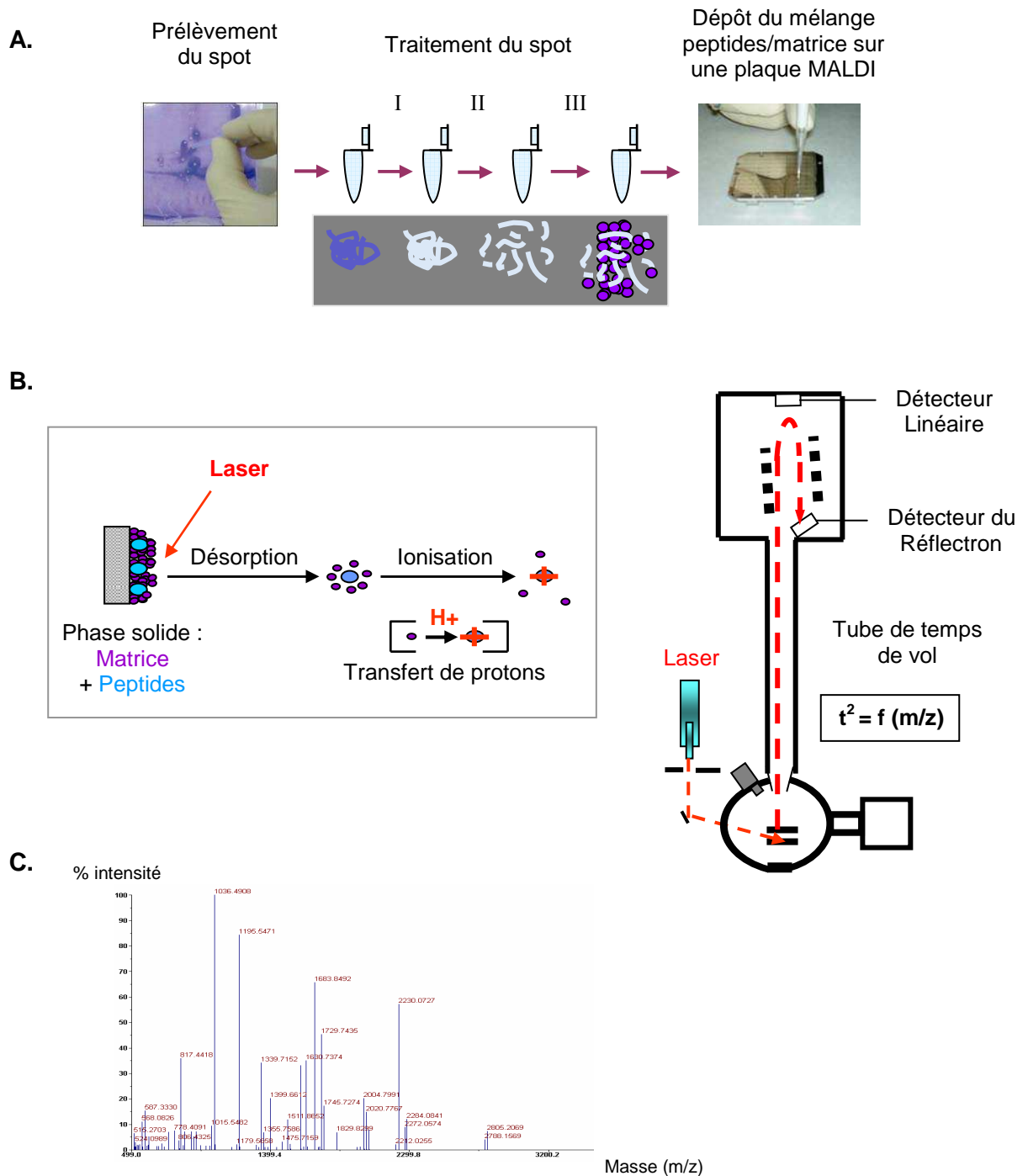


Figure 56 : Analyse par spectrométrie de masse (MALDI-TOF/MS)

A. Prélèvement et traitement des spots d'intérêt en vue d'une analyse par spectrométrie de masse. I: Décoloration ; II: Digestion enzymatique (Trypsine) ; III: Mélange des peptides obtenus à une matrice (CHCA : acide α -cyano-4-hydroxycinnamique)

B. Analyse par spectrométrie de masse de type MALDI-Tof (Matrix assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight)

C. Empreinte de masse peptidique. Chaque empreinte est spécifique d'une protéine.

Un spectromètre de masse se décompose en quatre parties distinctes :

- Le système d'introduction de l'échantillon
- La source où a lieu l'ionisation des molécules et la fragmentation des ions
- L'analyseur qui assure la séparation des ions suivant leur rapport masse (m) / charge (z)
- Le détecteur qui mesure l'abondance relative de chaque ion et l'enregistreur qui convertit les informations en spectre de masse

La source d'ionisation et l'analyseur peuvent être associés de diverses manières formant ainsi différentes plate-formes d'analyse possédant chacune des spécificités propres.

1.7.1 Technique MALDI-ToF/MS

Les extraits peptidiques sont déposés sur une couche mince de nitrocellulose puis recouverts de matrice (acide α -cyano-4-hydroxycinnamique, CHCA) en solution (10 mg/ml) dans un mélange acétonitrile/acide trifluoroacétique (50%/0,3%). L'évaporation du solvant induit la co-cristallisation de la matrice avec les peptides. Ce mélange est analysé par le spectromètre de masse MALDI-ToF « Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation-Time of Flight » (Voyager DE-PRO, PerSeptive Biosystems) constitué d'une source d'ionisation (MALDI) et d'un analyseur (ToF) (Figure 56 B). Les photons émis par le laser sont absorbés par la matrice, qui va accumuler de l'énergie. La matrice va se vaporiser en entraînant avec elle les peptides en phase gazeuse (désorption) (Karas and Hillenkamp 1988). Dans cette phase, il y a un mécanisme de transfert de protons de la matrice vers les peptides, donnant des ions préférentiellement monochargés de type $([M+H]^+)$, où M correspond à la masse du peptide analysé. Accélérés grâce à la haute tension appliquée sur la grille (20 kV), les peptides sont envoyés dans un tube de vol (analyseur ToF) où ils sont séparés en fonction de leur rapport masse sur charge (m/z). Au bout du tube de vol, ils sont détectés et enregistrés. Les ions les plus chargés et les plus légers atteignent le détecteur en premier. Les résultats sont obtenus sous la forme d'un spectre de masse, ou empreinte de masse, représentant en abscisse le rapport masse/charge (m/z) de chaque peptide détecté et en ordonnée l'intensité relative de chaque signal, exprimée en pourcentage du signal le plus intense (appelé pic de base). Les masses mesurées sont ramenées aux masses des ions monoisotopiques (composés seulement de ^{12}C) qui seront utilisées pour l'interrogation des bases de données. Un exemple de spectre de masse est représenté (Figure 56 C). Les spectres sont calibrés par l'intermédiaire des pics correspondant aux fragments de trypsine (calibration interne) et à des standards de masses (calibration externe : angiotensine 1, ACTH).

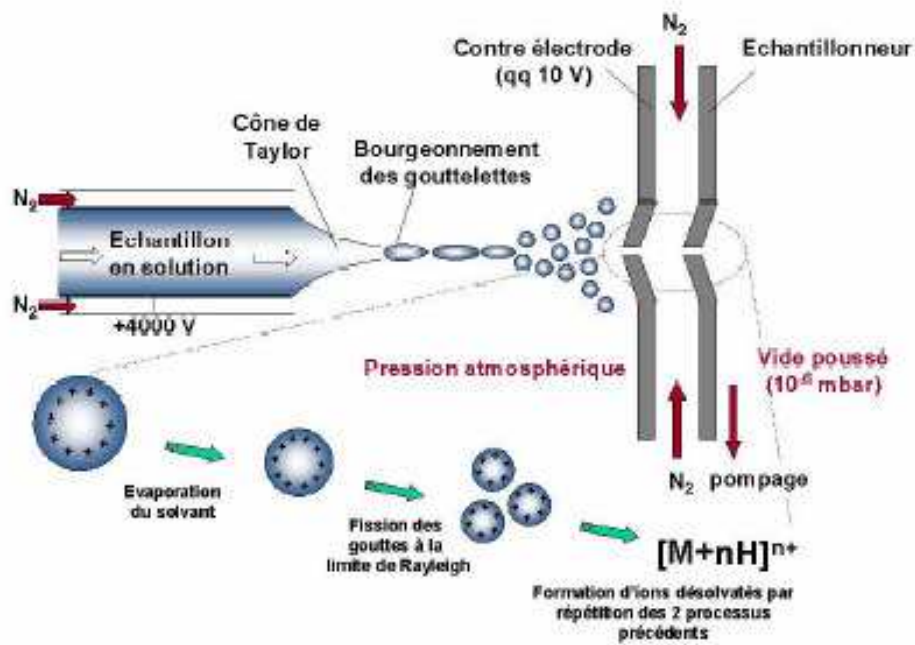


Figure 57 : Schéma de principe de la technique d'ionisation par électrospray (ESI)
 D'après Gaskell, 1997.

1.7.2 Technique micro ESI-MS/MS

Cette deuxième technique utilise le couplage de la chromatographie en phase liquide avec un spectromètre de masse de type trappe à ions (chaîne HPLC SURVEYOR – spectromètre de masse LCQ^{DECA} XP-PLUS (Thermo Electron)). Les peptides, en solution, sont séparés par micro HPLC. Chaque peptide ainsi différencié est alors soumis à l'ionisation de la source μ ESI. Le champ électrique intense appliqué à la sortie du capillaire provoque la formation d'un nuage de gouttelettes chargées qui traverse simultanément un gradient de champ électrique et un gradient de pression dans la direction de l'analyseur du spectromètre de masse. Pendant ce transport, la taille des gouttelettes diminue par évaporation du solvant, provoquée par une charge surfacique très élevée (Figure 57) (Gaskell 1997). De plus un flux de gaz (de l'azote en général) est appliqué à l'interface pour aider à l'évaporation du solvant. Les ions formés sous pression atmosphérique sont alors canalisés par un ensemble d'orifices sous pompage, vers l'analyseur où règne un vide poussé. Les ions ainsi formés sont des espèces multiprotonées de type $[M+nH]^{n+}$ où M correspond à la masse moléculaire de la molécule analysée, et n au nombre de charge portée par cette molécule ionisée. Les ions ainsi produits sont transmis à l'analyseur, qui est ici une trappe à ions. La trappe est à la fois l'analyseur de masse et la chambre de collision permettant la fragmentation. Elle est capable de piéger des ions, de mesurer la masse des ions qu'elle a accumulés (spectre MS simple), d'isoler un ion et de le fragmenter. Chaque ion parent est donc fragmenté par collision avec de l'hélium pour obtenir des ions fils. L'enchaînement de ces 4 étapes permet de générer un spectre MS/MS.

1.7.3 Identification des protéines

Les spectres de masse obtenus par MALDI-ToF sont analysés par Protein Prospector (<http://prospector.ucsf.edu>). Les masses des différents peptides d'une carte massique sont comparées aux masses théoriques des séquences référencées dans la banque de données SWISS-PROT/TrEMBL (www.expasy.org/sprot/) ou déduites de la banque de données nrNCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/). Un certain nombre de paramètres sont spécifiés afin d'optimiser l'identification protéique : l'enzyme de digestion utilisée (trypsine), les éventuelles oxydations des méthionines et/ou modifications des cystéines prises en compte, une erreur de masse de 50-100 ppm est autorisée, au moins 4 peptides doivent recouvrir la séquence protéique. Une restriction au niveau de l'espèce peut également être spécifiée, mais aucune limite concernant le pI ou la gamme de masse moléculaire n'est fixée. Les protéines sont identifiées sans ambiguïté lorsque les peptides reconnus recouvrent au moins 20 % de la

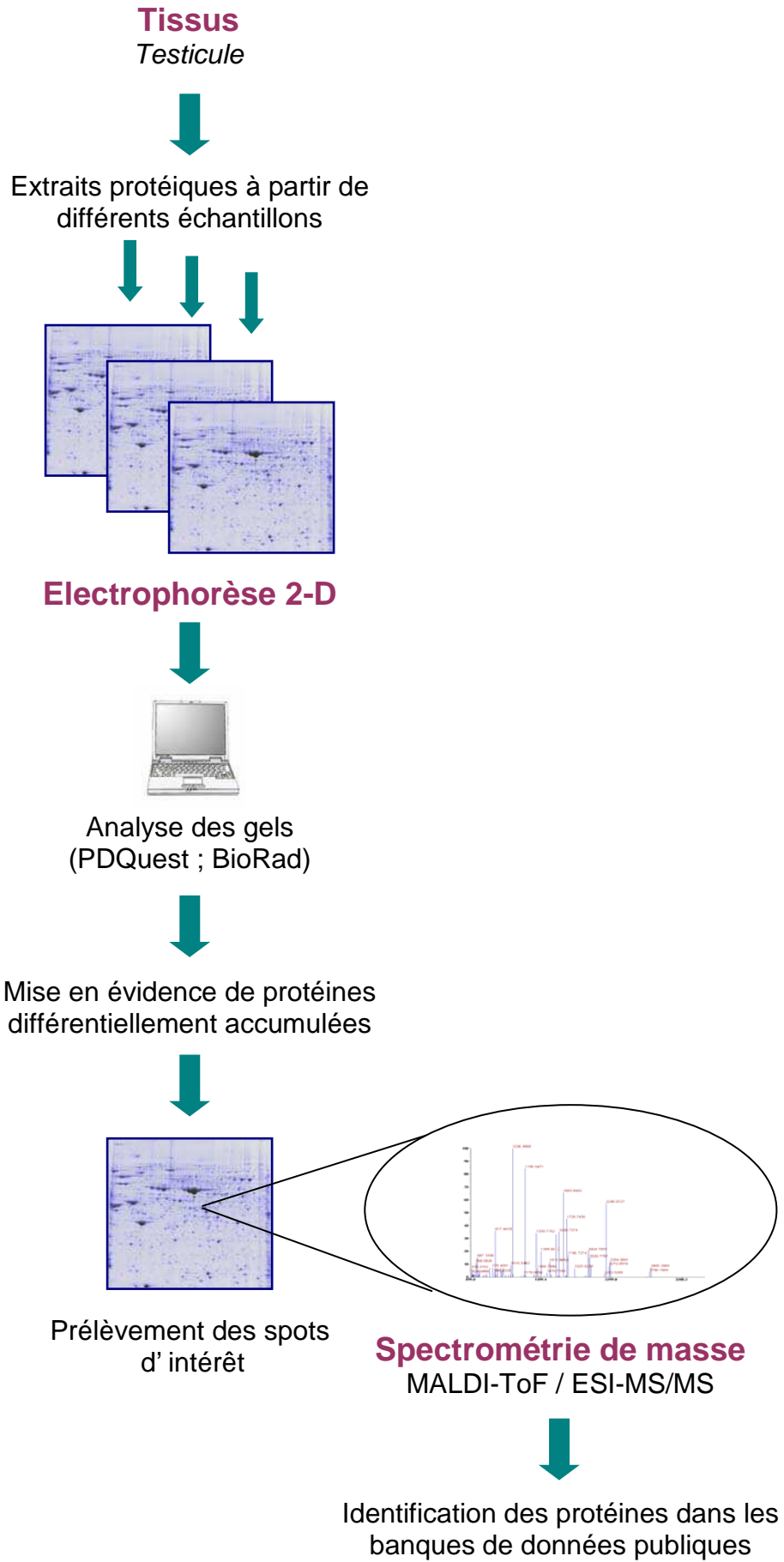


Figure 58 : Les différentes étapes de l'approche protéomique

séquence de la protéine identifiée. A chaque comparaison est associée une valeur (ou « score ») fondée sur le nombre de fragments protéolytiques obtenus dont les masses peuvent correspondre à celles des fragments protéolytiques des banques de données, et par la précision avec laquelle les masses sont déterminées. Les meilleurs scores correspondent aux comparaisons les plus fiables.

Les spectres MS/MS de fragmentation sont quant à eux interprétés par le logiciel Biowork (3.1 ThermoQuest) et par MASCOT (www.matrixscience.com) et comparés également avec des spectres de fragmentation théoriques contenus dans des bases de données SWISS-PROT/TrEMBL (www.expasy.org/sprot/) ou nrNCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/) afin d'identifier les protéines.

La figure 58 représente les différentes étapes de l'approche protéomique.

2. Analyse Transcriptomique

2.1 Préparation des extraits d'ARN totaux

Les ARN totaux sont extraits des échantillons de testicules, à l'aide du RNeasy Midi kit (Qiagen) selon les recommandations du fabricant. Afin d'éliminer d'éventuelles contaminations par de l'ADN génomique, les ARN totaux sont traités à l'aide du kit RNase-Free DNase set (Qiagen). Chaque échantillon est ensuite analysé à l'aide d'un spectrophotomètre (NanoDrop 1000, NanoDrop Technologies) et d'un Bioanalyseur 2100 (Agilent) afin de contrôler l'intégrité et la qualité des ARN totaux et d'en évaluer la quantité. La quantification de la β -actine, gène de ménage, est réalisée par PCR quantitative afin de contrôler l'homogénéité des différents échantillons. Ces différents contrôles qualité permettent de vérifier l'homogénéité des différents échantillons d'ARN totaux. Les échantillons d'un même groupe (8 h, 24 h, 48 h, 28 jours ; contrôle, traité), répondant aux critères de qualité, sont mélangés en quantité égale. Les analyses transcriptomiques sont effectuées sur ces « pools » d'échantillons.

2.2 Hybridation sur puce 44 K (Génome total, rat)

Les modulations des profils d'accumulation des ARNm sont évaluées à l'aide de puces 60-mer (Agilent) constituées de centaines de sondes oligonucléotidiques, couvrant le

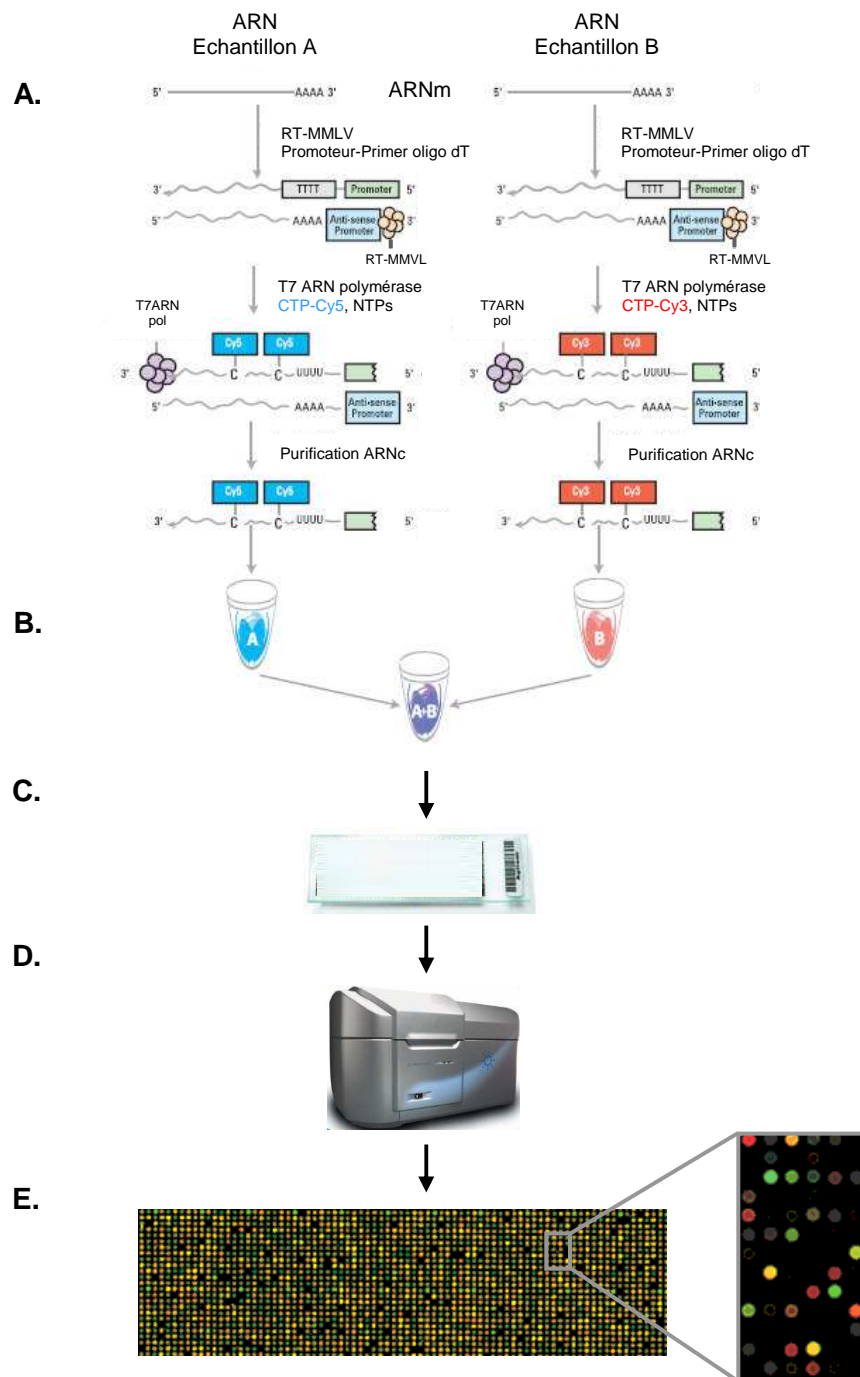


Figure 59 : Principe de l'analyse transcriptomique

A. Synthèse des sondes d'ARNc marquées à la cyanine 5 (Cy-5) et à la cyanine 3 (Cy-3) à partir des ARN totaux des échantillons contrôles et traités.

B. Mélange des sondes. Mélange 1: ARNc contrôle marqué à la Cy-3 + ARNc traité marqué à la Cy-5; Mélange 2 : ARNc contrôle marqué à la Cy-5 + ARNc traité marqué à la Cy-3.

C. Hybridation du mélange d'ARNc sur la lame. Utilisation de 2 lames par expérience : 1 lame par mélange (dye-swap).

D. Scan des lames. Les cyanines 5 et 3 émettent à des longueurs d'ondes différentes

E. Visualisation du résultat. Condition 1: en vert sont représentés les transcrits dont le niveau d'accumulation est diminué chez les traités et en rouge ceux dont le niveau d'accumulation est augmenté. Condition 2 : en rouge sont représentés les transcrits dont le niveau d'accumulation est diminué chez les traités et en vert ceux dont le niveau d'accumulation est augmenté Les spots jaunes correspondent aux transcrits dont le niveau d'accumulation ne varie pas.

génomique entier du rat. Les échantillons poolés d'ARN totaux, correspondant aux conditions contrôle et traité, à chaque dose de FM ou de chaque temps, sont utilisés pour synthétiser des sondes d'ARN complémentaire (ARNc) marquées à la cyanine 5 (Cy5) et à la cyanine 3 (Cy3) à l'aide du kit Low RNA Input Fluorescent Linear Amplification. Le taux d'incorporation de l'CTP-Cy3 ou CTP-Cy5 à l'ARNc est mesuré par un spectrophotomètre (NanoDrop 1000, NanoDrop Technologies). Les sondes d'ARNc marquées sont mélangées comme suit : ARNc contrôle marqué à la Cy3 avec ARNc traité marqué à la Cy5 et ARNc contrôle marqué à la Cy5 avec ARNc traité marqué à la Cy3. Les mixtes de sondes Cy5/Cy3 sont ensuite fragmentés selon le protocole du kit d'Hybridation In situ (Agilent), purifiées sur colonne (Spin column, Agilent) et hybridés sur les puces oligonucléotidiques suivant les recommandations du fabricant. Ces hybridations sont effectuées en « dye swap », c'est-à-dire que l'on utilise un couple de lames sur lesquelles les deux échantillons hybridés ont été marqués en inversant les fluorochromes. L'analyse en « dye swap » nous permet de nous affranchir des éventuels biais introduit par les 2 différents fluorochromes utilisés (différence d'incorporation liée aux nucléotides fluorescents, différence de la stabilité et de rendement de fluorescence des 2 fluorochromes). L'hybridation s'effectue pendant 17 heures à 60°C dans un four à hybridation, sous rotation. Un total de 12 lames a été utilisé : 6 expériences distinctes, correspondant au temps 8 h, 24 h, 48 h, et aux doses 6, 30, 150 mg/kg/j, ont été menées, chacune en « dye-swap ». Les lames sont ensuite lavées puis scannées à l'aide du DNA microarray scanner (Agilent) à une résolution de 10 µm. Le programme Feature Extraction (version 4.1, Agilent) est capable de localiser chaque spot de la lame et d'intégrer, filtrer et normaliser (méthode de LOWESS) le signal de chaque spot. L'analyse et la visualisation des résultats sont effectuées à l'aide du logiciel Spot Fire. Le ratio de l'intensité du signal normalisé de l'échantillon traité (Cy3) sur l'échantillon contrôle (Cy5) permet la mesure quantitative des variations du niveau d'accumulation des transcrits entre les conditions contrôle et traitée. Afin de sélectionner les transcrits significativement modulés par le FM, nous avons défini un seuil: seuls les transcrits ayant une intensité normalisée supérieure à 500 et retrouvés en dye swap sont sélectionnés. Des listes de transcrits sur-accumulés ($T/C \geq 1.2$) et sous-accumulés ($T/C \leq 0.8$) sont ainsi créées.

La figure 59 schématise les différentes étapes de l'approche transcriptomique.

2.3 PCR quantitative

Des analyses par PCR quantitative en temps réel (qPCR) ont été menées sur quelques gènes clés, afin de valider les résultats des profils d'expression géniques issus des

analyses sur les puces oligonucleotidiques, obtenus à partir de mélanges d'échantillons d'ARNm.

Cette méthode utilise des sondes Taqman, qui sont des oligonucléotides de 20 à 30 pb spécifique d'une séquence interne à la séquence à amplifier et marqués à l'extrémité 5' d'un fluorochrome appelé « reporter » et à l'extrémité 3' par un autre type de fluorochrome appelé « quencher ». L'émission du « reporter » est atténuée ou « quenché » (éteint) par la proximité du « quencher ». Dans la réaction de PCR, l'activité exonucléase 5' → 3' de la Taq polymérase va dégrader la sonde Taqman hybridée à la séquence cible et libérer le fluorochrome « reporter » du « quencher » et ainsi l'émission du « reporter » sera augmentée. De cette façon, la quantité de lumière émise est à chaque instant fonction de la quantité de sonde clivée par la Taq et par conséquent de la quantité de produit PCR dans la réaction.

En PCR quantitative, l'incorporation d'un fluorochrome permet donc de quantifier le nombre de copies d'ADNc de la séquence cible présentes dans le mélange initial de PCR. Cette quantité peut-être normalisée par rapport à un gène endogène servant comme référence. Les quantités obtenues ne correspondent dès lors pas à des quantités absolues, mais représentent l'expression relative d'un gène cible par rapport à un contrôle endogène. La quantification repose sur la phase exponentielle de la PCR et sur le paramètre, Ct (threshold cycle, cycle de seuil). Le Ct est défini comme le nombre de cycles d'amplification après lesquels le niveau de fluorescence mesuré dépasse le bruit de fond de la réaction. La valeur de Ct est inversement proportionnelle au logarithme du nombre de copies de la séquence cible présentes dans l'échantillon initial. Ce paramètre, déterminé pour le transcrite cible et pour le gène endogène de référence, permet d'obtenir une quantité relative d'expression d'un gène dans un échantillon donné par rapport à un échantillon de référence et normalisée par rapport à un gène de référence, en ayant recours à la formule suivante :

$$RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct} \text{ [avec : } RQ = \text{Relative quantification ; } Ct = \text{cycle de seuil ; } \Delta Ct = Ct \text{ (gène de référence) - } Ct \text{ (gène d'intérêt) ; } \Delta\Delta Ct = \Delta Ct \text{ (échantillon de référence) - } \Delta Ct \text{ (échantillon d'intérêt)}]$$

Des ADNc ont été synthétisés à partir de 10 µg d'ARN total, à l'aide du kit High Capacity cDNA Archive (Applied Biosystems). Les PCR quantitatives ont été réalisées en duplicat, à l'aide du kit AmpliTaq Gold PCR Master Mix et d'amorces Taqman fabriquées à la demande (Applied Biosystems). Ces analyses ont été menées sur l'appareil ABI Prism 7900 HT (Applied Biosystems). Nos résultats sont normalisés par rapport au gène endogène de référence, la β-actine, qui a une expression stable et non modulée par le FM. L'analyse des résultats est effectuée par le logiciel SDS (Applied Biosystems)

3. Analyse Fonctionnelle

3.1 Gene Ontology

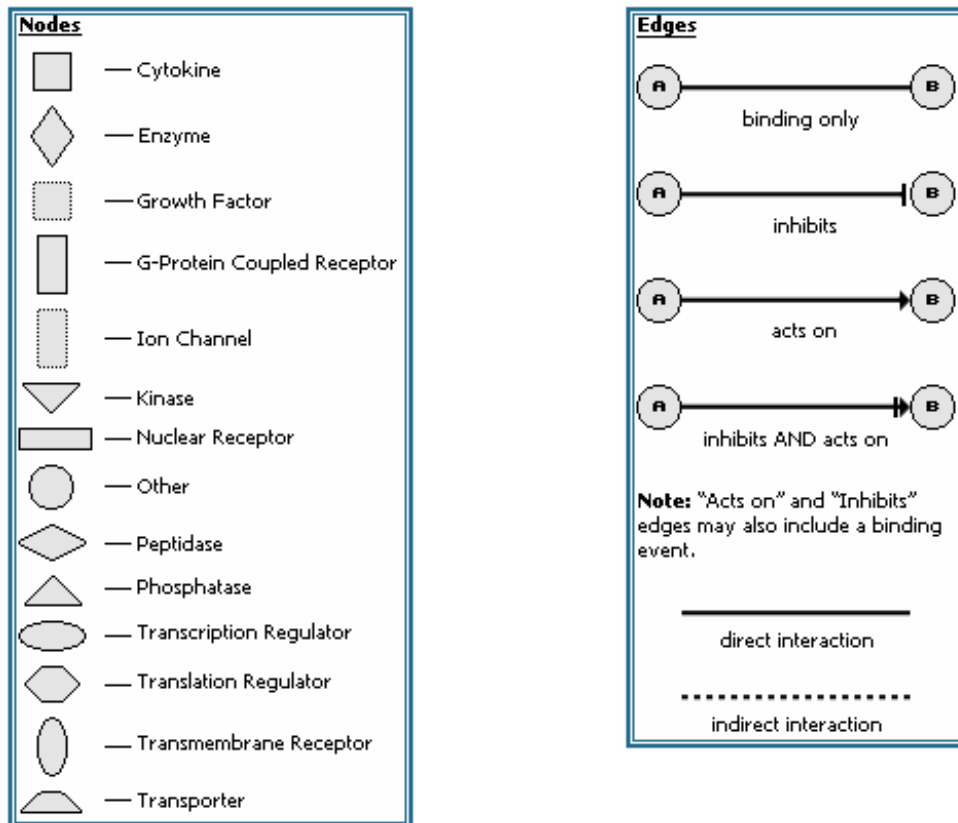
Les listes de transcrits dont le niveau d'accumulation est modulé suite à une exposition au FM, sont analysées à l'aide du module « Functional Genomic » du logiciel Spotfire. Cette analyse permet de classer les transcrits selon la « Gene Ontology » c'est-à-dire selon différentes fonctions moléculaires, processus biologiques ainsi que selon leur localisation cellulaire.

3.2 Ingenuity Pathway Analysis

Les listes de protéines et de transcrits ayant leur niveau d'accumulation modulé suite à une exposition au FM, sont analysées à l'aide du programme Ingenuity Pathway Analysis (IPA) (Ingenuity Systems, www.ingenuity.com), permettant analyse à 3 niveaux :

- Analyse des réseaux d'interaction de gènes/protéines

Les gènes, ou protéines, issus des listes créées sous Spotfire, c'est-à-dire les gènes répondants aux critères de sélection, sont appelés « focus genes » et sont superposés à des réseaux de gènes/protéines, contenus dans la base de données du programme IPA. Ces réseaux sont créés à partir d'interactions protéines-protéines et protéines-acides nucléiques décrites dans la littérature. IPA utilise divers algorithmes pour identifier les réseaux enrichis en « focus gene ». Ces réseaux sont générés en fonction de la connectivité des différents « focus gene » et ils sont composés de 35 gènes au maximum. Les différents réseaux sont classés en fonction d'une valeur appelée score, qui reflète le nombre de « focus gene » inclus dans chaque réseau ainsi que la taille des réseaux. De plus, trois fonctions moléculaires majeures sont assignées à chaque réseau. Un score de 5 équivaut à une p-value de 10^{-5} (test de Fisher) et cette p-value reflète la probabilité d'avoir chaque fonction biologique associée à un réseau simplement par chance. Pour nos analyses nous avons considéré les réseaux possédant un score supérieur à 10.



- A** Activation / Deactivation
- RB** Regulation of Binding
- PR** Protein-MRNA binding
- PP** Protein-Protein binding
- PD** Protein-DNA binding
- B** Binding (only appears prior to IPA 3.0)
- E** Expression
- I** Inhibition
- L** ProteoLysis
- M** Biochemical Modification
- O** Other (only appears prior to IPA 3.0)
- P** Phosphorylation / Desphosphorylation
- T** Transcription
- LO** Localization

Figure 60 : Légendes des symboles utilisés le programme IPA

- Analyse fonctionnelle.

Cette analyse permet d'identifier les fonctions biologiques statistiquement affectées. De la même façon que pour l'analyse des réseaux, à chaque fonction biologique est associée une p-value (test de Fisher) reflétant le nombre de gènes ou de protéines modulés, associé à chaque fonction. Cette p-value détermine la probabilité que chaque fonction affectée, associée à une liste de gènes ou protéines, n'est pas seulement due au hasard

- Analyse des voies métaboliques.

Cette analyse permet d'identifier les voies métaboliques affectées de façon statistiquement significative (test de Fisher).

Le programme IPA permet de visualiser les résultats des ces différentes analyses sous forme de schéma représentant les produits des gènes, leur localisation cellulaire ainsi que leurs éventuelles interactions avec d'autres produits de gènes. Les différents gènes sont représentés sous différentes formes, appelées « Nodes » correspondantes à la fonction cellulaire de la protéine codée par le gène. De plus, les lettres mentionnées entre certain produit de gène donnent une précision sur la nature de l'interaction (« Edge ») (Figure 60).

❧ Références Bibliographiques ❧

∞ Références Bibliographiques ∞

- Abney, T. O. (1999). "The potential roles of estrogens in regulating Leydig cell development and function: a review." Steroids **64**(9): 610-7.
- Acevedo, H. F. (2002). "Human chorionic gonadotropin (hCG), the hormone of life and death: a review." J Exp Ther Oncol **2**(3): 133-45.
- Adami, H. O., R. Bergstrom, M. Mohner, W. Zatonski, H. Storm, A. Ekblom, S. Tretli, L. Teppo, H. Ziegler, M. Rahu and et al. (1994). "Testicular cancer in nine northern European countries." Int J Cancer **59**(1): 33-8.
- Akingbemi, B. T. (2005). "Estrogen regulation of testicular function." Reprod Biol Endocrinol **3**: 51.
- Alavanja, M. C., C. Samanic, M. Dosemeci, J. Lubin, R. Tarone, C. F. Lynch, C. Knott, K. Thomas, J. A. Hoppin, J. Barker, J. Coble, D. P. Sandler and A. Blair (2003). "Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the Agricultural Health Study cohort." Am J Epidemiol **157**(9): 800-14.
- Aleem, M., V. Padwal, J. Choudhari, N. Balasinor, P. Parte and M. Gill-Sharma (2005a). "Cyproterone acetate affects protamine gene expression in the testis of adult male rat." Contraception **71**(5): 379-91.
- Aleem, M., V. Padwal, J. Choudhari, N. Balasinor, P. Parte and M. Gill-Sharma (2005b). "Effects of tamoxifen citrate on gene expression during nuclear chromatin condensation in male rats." Asian J Androl **7**(3): 311-21.
- Aleem, M., V. Padwal, J. Choudhari, N. Balasinor, P. Parte and M. K. Gill-Sharma (2006). "Estradiol affects androgen-binding protein expression and fertilizing ability of spermatozoa in adult male rats." Mol Cell Endocrinol **253**(1-2): 1-13.
- Allan, C. M., A. Garcia, J. Spaliviero, F. P. Zhang, M. Jimenez, I. Huhtaniemi and D. J. Handelsman (2004). "Complete Sertoli cell proliferation induced by follicle-stimulating hormone (FSH) independently of luteinizing hormone activity: evidence from genetic models of isolated FSH action." Endocrinology **145**(4): 1587-93.
- Amory, J. K. and W. Bremner (2001). "Endocrine regulation of testicular function in men: implications for contraceptive development." Mol Cell Endocrinol **182**(2): 175-9.
- Anahara, R., Y. Toyama, M. Maekawa, M. Kai, F. Ishino, K. Toshimori and C. Mori (2006a). "Flutamide depresses expression of cortactin in the ectoplasmic specialization between the Sertoli cells and spermatids in the mouse testis." Food Chem Toxicol **44**(7): 1050-6.
- Anahara, R., Y. Toyama, M. Maekawa, M. Yoshida, M. Kai, F. Ishino, K. Toshimori and C. Mori (2006b). "Anti-estrogen ICI 182.780 and anti-androgen flutamide induce tyrosine phosphorylation of cortactin in the ectoplasmic specialization between the Sertoli cell and spermatids in the mouse testis." Biochem Biophys Res Commun **346**(1): 276-80.

- Anahara, R., Y. Toyama and C. Mori (2004). "Flutamide induces ultrastructural changes in spermatids and the ectoplasmic specialization between the Sertoli cell and spermatids in mouse testes." Reprod Toxicol **18**(4): 589-96.
- Andrews, P., A. Freyberger, E. Hartmann, R. Eiben, I. Loof, U. Schmidt, M. Temerowski and M. Becka (2001). "Feasibility and potential gains of enhancing the subacute rat study protocol (OECD test guideline no. 407) by additional parameters selected to determine endocrine modulation. A pre-validation study to determine endocrine-mediated effects of the antiandrogenic drug flutamide." Arch Toxicol **75**(2): 65-73.
- Anway, M. D., A. S. Cupp, M. Uzumcu and M. K. Skinner (2005). "Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility." Science **308**(5727): 1466-9.
- Anway, M. D., C. Leathers and M. K. Skinner (2006). "Endocrine disruptor vinclozolin induced epigenetic transgenerational adult-onset disease." Endocrinology **147**(12): 5515-23.
- Ascoli, M., F. Fanelli and D. L. Segaloff (2002). "The lutropin/choriogonadotropin receptor, a 2002 perspective." Endocr Rev **23**(2): 141-74.
- Ashby, J., E. Houthoff, S. J. Kennedy, J. Stevens, R. Bars, F. W. Jekat, P. Campbell, J. Van Miller, F. M. Carpanini and G. L. Randall (1997). "The challenge posed by endocrine-disrupting chemicals." Environ Health Perspect **105**(2): 164-9.
- Ashby, J., P. A. Lefevre, H. Tinwell, J. Odum and W. Owens (2004). "Testosterone-stimulated weanlings as an alternative to castrated male rats in the Hershberger anti-androgen assay." Regul Toxicol Pharmacol **39**(2): 229-38.
- Asirvatham, A. J., M. Schmidt, B. Gao and J. Chaudhary (2006). "Androgens regulate the immune/inflammatory response and cell survival pathways in rat ventral prostate epithelial cells." Endocrinology **147**(1): 257-71.
- Azzolina, B., K. Ellsworth, S. Andersson, W. Geissler, H. G. Bull and G. S. Harris (1997). "Inhibition of rat alpha-reductases by finasteride: evidence for isozyme differences in the mechanism of inhibition." J Steroid Biochem Mol Biol **61**(1-2): 55-64.
- B**aIRD, D. T., A. Uno and J. C. Melby (1969). "Adrenal secretion of androgens and oestrogens." J Endocrinol **45**(1): 135-6.
- Balk, S. P. (2002). "Androgen receptor as a target in androgen-independent prostate cancer." Urology **60**(3 Suppl 1): 132-8; discussion 138-9.
- Bay, K., C. Asklund, N. E. Skakkebaek and A. M. Andersson (2006). "Testicular dysgenesis syndrome: possible role of endocrine disruptors." Best Pract Res Clin Endocrinol Metab **20**(1): 77-90.
- Bell, J. B., G. P. Vinson, D. J. Hopkin and D. Lacy (1968). "Pathways for androgen biosynthesis from [7 alpha-3H] pregnenolone and [4-14C]progesterone by rat testis interstitium in vitro." Biochim Biophys Acta **164**(2): 412-20.
- Benahmed, M., C. Dellamonica, F. Haour and T. M. Saez (1981). "Specific low density lipoprotein receptors in pig Leydig cells. Role of this lipoprotein in cultured Leydig cells steroidogenesis." Biochem Biophys Res Commun **99**(4): 1123-30.

- Benbrahim-Tallaa, L., E. Tabone, G. Tosser-Klopp, F. Hatey and M. Benahmed (2002). "Glutathione S-transferase alpha expressed in porcine Sertoli cells is under the control of follicle-stimulating hormone and testosterone." Biol Reprod **66**(6): 1734-42.
- Bibbo, M., W. B. Gill, F. Azizi, R. Blough, V. S. Fang, R. L. Rosenfield, G. F. Schumacher, K. Sleeper, M. G. Sonek and G. L. Wied (1977). "Follow-up study of male and female offspring of DES-exposed mothers." Obstet Gynecol **49**(1): 1-8.
- Bilezikjian, L. M., A. L. Blount, A. M. Leal, C. J. Donaldson, W. H. Fischer and W. W. Vale (2004). "Autocrine/paracrine regulation of pituitary function by activin, inhibin and follistatin." Mol Cell Endocrinol **225**(1-2): 29-36.
- Birnbaum, L. S. and J. Tuomisto (2000). "Non-carcinogenic effects of TCDD in animals." Food Addit Contam **17**(4): 275-88.
- Bitman, J., H. C. Cecil, S. J. Harris and G. F. Fries (1968). "Estrogenic activity of o,p'-DDT in the mammalian uterus and avian oviduct." Science **162**(851): 371-2.
- Bjellqvist, B., K. Ek, P. G. Righetti, E. Gianazza, A. Gorg, R. Westermeier and W. Postel (1982). "Isoelectric focusing in immobilized pH gradients: principle, methodology and some applications." J Biochem Biophys Methods **6**(4): 317-39.
- Blount, B. C., M. J. Silva, S. P. Caudill, L. L. Needham, J. L. Pirkle, E. J. Sampson, G. W. Lucier, R. J. Jackson and J. W. Brock (2000). "Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population." Environ Health Perspect **108**(10): 979-82.
- Bozec, A., F. Chuzel, S. Chater, C. Paulin, R. Bars, M. Benahmed and C. Mauduit (2004). "The mitochondrial-dependent pathway is chronically affected in testicular germ cell death in adult rats exposed in utero to anti-androgens." J Endocrinol **183**(1): 79-90.
- Bradford, M. M. (1976). "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding." Anal Biochem **72**: 248-54.
- Bremner, W. J., M. R. Millar, R. M. Sharpe and P. T. Saunders (1994). "Immunohistochemical localization of androgen receptors in the rat testis: evidence for stage-dependent expression and regulation by androgens." Endocrinology **135**(3): 1227-34.
- Bubulya, A., S. C. Wise, X. Q. Shen, L. A. Burmeister and L. Shemshedini (1996). "c-Jun can mediate androgen receptor-induced transactivation." J Biol Chem **271**(40): 24583-9.
- Burel, C., V. Mezger, M. Pinto, M. Rallu, S. Trigon and M. Morange (1992). "Mammalian heat shock protein families. Expression and functions." Experientia **48**(7): 629-34.
- Burgos-Trinidad, M., G. L. Youngblood, M. R. Maroto, A. Scheller, D. M. Robins and A. H. Payne (1997). "Repression of cAMP-induced expression of the mouse P450 17 alpha-hydroxylase/C17-20 lyase gene (Cyp17) by androgens." Mol Endocrinol **11**(1): 87-96.
- Carlsen, E., A. Giwercman, N. Keiding and N. E. Skakkebaek (1992). "Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years." Bmj **305**(6854): 609-13.
- Carreau, S., C. Genissel, B. Bilinska and J. Levallet (1999). "Sources of oestrogen in the testis and reproductive tract of the male." Int J Androl **22**(4): 211-23.

- Cayatte, C., C. Pons, J. M. Guigonis, J. Pizzol, L. Elies, P. Kennel, D. Rouquie, R. Bars, B. Rossi and M. Samson (2006). "Protein profiling of rat ventral prostate following chronic finasteride administration: identification and localization of a novel putative androgen-regulated protein." Mol Cell Proteomics **5**(11): 2031-43.
- Chandolia, R. K., G. F. Weinbauer, M. Simoni, H. M. Behre and E. Nieschlag (1991). "Comparative effects of chronic administration of the non-steroidal antiandrogens flutamide and Casodex on the reproductive system of the adult male rat." Acta Endocrinol (Copenh) **125**(5): 547-55.
- Chang, C. and J. Kokontis (1988). "Identification of a new member of the steroid receptor super-family by cloning and sequence analysis." Biochem Biophys Res Commun **155**(2): 971-7.
- Cheng, C. Y. and D. D. Mruk (2002). "Cell junction dynamics in the testis: Sertoli-germ cell interactions and male contraceptive development." Physiol Rev **82**(4): 825-74.
- Christensen, A. K. and D. W. Fawcett (1966). "The fine structure of testicular interstitial cells in mice." Am J Anat **118**(2): 551-71.
- Christensen, A. K. and K. C. Peacock (1980). "Increase in Leydig cell number in testes of adult rats treated chronically with an excess of human chorionic gonadotropin." Biol Reprod **22**(2): 383-91.
- Chuaqui, R. F., R. F. Bonner, C. J. Best, J. W. Gillespie, M. J. Flaig, S. M. Hewitt, J. L. Phillips, D. B. Krizman, M. A. Tangrea, M. Ahram, W. M. Linehan, V. Knezevic and M. R. Emmert-Buck (2002). "Post-analysis follow-up and validation of microarray experiments." Nat Genet **32** Suppl: 509-14.
- Claessens, F., G. Verrijdt, E. Schoenmakers, A. Haelens, B. Peeters, G. Verhoeven and W. Rombauts (2001). "Selective DNA binding by the androgen receptor as a mechanism for hormone-specific gene regulation." J Steroid Biochem Mol Biol **76**(1-5): 23-30.
- Clark, B. J., J. Wells, S. R. King and D. M. Stocco (1994). "The purification, cloning, and expression of a novel luteinizing hormone-induced mitochondrial protein in MA-10 mouse Leydig tumor cells. Characterization of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR)." J Biol Chem **269**(45): 28314-22.
- Clermont, Y. (1972). "Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal." Physiol Rev **52**(1): 198-236.
- Conley, A. and M. Hinshelwood (2001). "Mammalian aromatases." Reproduction **121**(5): 685-95.
- Cook, J. C., L. S. Mullin, S. R. Frame and L. B. Biegel (1993). "Investigation of a mechanism for Leydig cell tumorigenesis by linuron in rats." Toxicol Appl Pharmacol **119**(2): 195-204.
- Cox, B., T. Kislinger and A. Emili (2005). "Integrating gene and protein expression data: pattern analysis and profile mining." Methods **35**(3): 303-14.
- Culig, Z., A. Hobisch, M. V. Cronauer, C. Radmayr, J. Trapman, A. Hittmair, G. Bartsch and H. Klocker (1994). "Androgen receptor activation in prostatic tumor cell lines by insulin-like growth factor-I, keratinocyte growth factor, and epidermal growth factor." Cancer Res **54**(20): 5474-8.

- Dadoune, J. P. (2003). "Expression of mammalian spermatozoal nucleoproteins." Microsc Res Tech **61**(1): 56-75.
- Dallas, P. B., N. G. Gottardo, M. J. Firth, A. H. Beesley, K. Hoffmann, P. A. Terry, J. R. Freitas, J. M. Boag, A. J. Cummings and U. R. Kees (2005). "Gene expression levels assessed by oligonucleotide microarray analysis and quantitative real-time RT-PCR -- how well do they correlate?" BMC Genomics **6**(1): 59.
- Danzo, B. J. (1997). "Environmental xenobiotics may disrupt normal endocrine function by interfering with the binding of physiological ligands to steroid receptors and binding proteins." Environ Health Perspect **105**(3): 294-301.
- de Bold, A. J. (1985). "Atrial natriuretic factor: a hormone produced by the heart." Science **230**(4727): 767-70.
- De Gendt, K., J. V. Swinnen, P. T. Saunders, L. Schoonjans, M. Dewerchin, A. Devos, K. Tan, N. Atanassova, F. Claessens, C. Lecureuil, W. Heyns, P. Carmeliet, F. Guillou, R. M. Sharpe and G. Verhoeven (2004). "A Sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor causes spermatogenic arrest in meiosis." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(5): 1327-32.
- de Kretser, D. M., J. J. Buzzard, Y. Okuma, A. E. O'Connor, T. Hayashi, S. Y. Lin, J. R. Morrison, K. L. Loveland and M. P. Hedger (2004). "The role of activin, follistatin and inhibin in testicular physiology." Mol Cell Endocrinol **225**(1-2): 57-64.
- De Kretser, D. M., K. J. Catt and C. A. Paulsen (1971). "Studies on the in vitro testicular binding of iodinated luteinizing hormone in rats." Endocrinology **88**(2): 332-7.
- de Kretser, D. M., M. P. Hedger, K. L. Loveland and D. J. Phillips (2002). "Inhibins, activins and follistatin in reproduction." Hum Reprod Update **8**(6): 529-41.
- de Winter, J. P., M. A. Timmerman, H. M. Vanderstichele, I. A. Klaij, A. J. Grootenhuis, F. F. Rommerts and F. H. de Jong (1992). "Testicular Leydig cells in vitro secrete only inhibin alpha-subunits, whereas Leydig cell tumors can secrete bioactive inhibin." Mol Cell Endocrinol **83**(2-3): 105-15.
- Denolet, E., K. De Gendt, J. Allemeersch, K. Engelen, K. Marchal, P. Van Hummelen, K. A. Tan, R. M. Sharpe, P. T. Saunders, J. V. Swinnen and G. Verhoeven (2006). "The effect of a sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor on testicular gene expression in prepubertal mice." Mol Endocrinol **20**(2): 321-34.
- Desai, K. V., A. M. Michalowska, P. Kondaiah, J. M. Ward, J. H. Shih and J. E. Green (2004). "Gene expression profiling identifies a unique androgen-mediated inflammatory/immune signature and a PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10)-mediated apoptotic response specific to the rat ventral prostate." Mol Endocrinol **18**(12): 2895-907.
- Dix, D. J. and R. L. Hong (1998). "Protective mechanisms in germ cells: stress proteins in spermatogenesis." Adv Exp Med Biol **444**: 137-43; discussion 143-4.
- Dobs, A. S., D. R. Hoover, M. C. Chen and R. Allen (1998). "Pharmacokinetic characteristics, efficacy, and safety of buccal testosterone in hypogonadal males: a pilot study." J Clin Endocrinol Metab **83**(1): 33-9.
- Dodds, E. C. and W. Lawson (1936). "Synthetic, oestrogenic agents without the phenanthrene nucleus." Nature **137**: 996.

- E**ddy, E. M. (1999). "Role of heat shock protein HSP70-2 in spermatogenesis." Rev Reprod 4(1): 23-30.
- Eddy, E. M., T. F. Washburn, D. O. Bunch, E. H. Goulding, B. C. Gladen, D. B. Lubahn and K. S. Korach (1996). "Targeted disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility." Endocrinology 137(11): 4796-805.
- EDSTAC. (1996). "Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committee."
- F**ang, Y., A. E. Fliss, D. M. Robins and A. J. Caplan (1996). "Hsp90 regulates androgen receptor hormone binding affinity in vivo." J Biol Chem 271(45): 28697-702.
- Fenton, S. E. (2006). "Endocrine-disrupting compounds and mammary gland development: early exposure and later life consequences." Endocrinology 147(6 Suppl): S18-24.
- Ferlin, A., B. Arredi, D. Zuccarello, A. Garolla, R. Selice and C. Foresta (2006). "Paracrine and endocrine roles of insulin-like factor 3." J Endocrinol Invest 29(7): 657-64.
- Florin, A., M. Maire, A. Bozec, A. Hellani, S. Chater, R. Bars, F. Chuzel and M. Benahmed (2005). "Androgens and postmeiotic germ cells regulate claudin-11 expression in rat Sertoli cells." Endocrinology 146(3): 1532-40.
- Folsvik, N., J. A. Berge, E. M. Brevik and M. Walday (1999). "Quantification of organotin compounds and determination of imposex in populations of dogwhelks (*Nucella lapillus*) from Norway." Chemosphere 38(3): 681-91.
- Foster, P. M. and M. W. Harris (2005). "Changes in androgen-mediated reproductive development in male rat offspring following exposure to a single oral dose of flutamide at different gestational ages." Toxicol Sci 85(2): 1024-32.
- G**aido, K. W., L. S. Leonard, S. C. Maness, J. M. Hall, D. P. McDonnell, B. Saville and S. Safe (1999). "Differential interaction of the methoxychlor metabolite 2,2-bis-(p-hydroxyphenyl)-1,1,1-trichloroethane with estrogen receptors alpha and beta." Endocrinology 140(12): 5746-53.
- Gaskell, S. J. (1997). "Electrospray: Principles and Practice." J. Mass Spectrom. 32: 677-88.
- Ge, R. S., Q. Dong, C. M. Sottas, H. Chen, B. R. Zirkin and M. P. Hardy (2005). "Gene expression in rat leydig cells during development from the progenitor to adult stage: a cluster analysis." Biol Reprod 72(6): 1405-15.
- Gerard, A. (1995). "Endocytosis of androgen-binding protein (ABP) by spermatogenic cells." J Steroid Biochem Mol Biol 53(1-6): 533-42.
- Gibbons, R., S. A. Adeoya-Osiguwa and L. R. Fraser (2005). "A mouse sperm decapacitation factor receptor is phosphatidylethanolamine-binding protein 1." Reproduction 130(4): 497-508.
- Gibbs, R. A., G. M. Weinstock, M. L. Metzker, D. M. Muzny, E. J. Sodergren, S. Scherer, G. Scott, D. Steffen, K. C. Worley, P. E. Burch, G. Okwuonu, S. Hines, L. Lewis, C. DeRamo, O. Delgado, S. Dugan-Rocha, G. Miner, M. Morgan, A. Hawes, R. Gill, Celera, R. A. Holt, M. D. Adams, P. G. Amanatides, H. Baden-Tillson, M. Barnstead, S. Chin,

C. A. Evans, S. Ferriera, C. Fosler, A. Glodek, Z. Gu, D. Jennings, C. L. Kraft, T. Nguyen, C. M. Pfannkoch, C. Sitter, G. G. Sutton, J. C. Venter, T. Woodage, D. Smith, H. M. Lee, E. Gustafson, P. Cahill, A. Kana, L. Doucette-Stamm, K. Weinstock, K. Fichtel, R. B. Weiss, D. M. Dunn, E. D. Green, R. W. Blakesley, G. G. Bouffard, P. J. De Jong, K. Osoegawa, B. Zhu, M. Marra, J. Schein, I. Bosdet, C. Fjell, S. Jones, M. Krzywinski, C. Mathewson, A. Siddiqui, N. Wye, J. McPherson, S. Zhao, C. M. Fraser, J. Shetty, S. Shatsman, K. Geer, Y. Chen, S. Abramzon, W. C. Nierman, P. H. Havlak, R. Chen, K. J. Durbin, A. Egan, Y. Ren, X. Z. Song, B. Li, Y. Liu, X. Qin, S. Cawley, K. C. Worley, A. J. Cooney, L. M. D'Souza, K. Martin, J. Q. Wu, M. L. Gonzalez-Garay, A. R. Jackson, K. J. Kalafus, M. P. McLeod, A. Milosavljevic, D. Virk, A. Volkov, D. A. Wheeler, Z. Zhang, J. A. Bailey, E. E. Eichler, E. Tuzun, E. Birney, E. Mongin, A. Ureta-Vidal, C. Woodwark, E. Zdobnov, P. Bork, M. Suyama, D. Torrents, M. Alexandersson, B. J. Trask, J. M. Young, H. Huang, H. Wang, H. Xing, S. Daniels, D. Gietzen, J. Schmidt, K. Stevens, U. Vitt, J. Wingrove, F. Camara, M. Mar Alba, J. F. Abril, R. Guigo, A. Smit, I. Dubchak, E. M. Rubin, O. Couronne, A. Poliakov, N. Hubner, D. Ganten, C. Goesele, O. Hummel, T. Kreitler, Y. A. Lee, J. Monti, H. Schulz, H. Zimdahl, H. Himmelbauer, H. Lehrach, H. J. Jacob, S. Bromberg, J. Gullings-Handley, M. I. Jensen-Seaman, A. E. Kwitek, J. Lazar, D. Pasko, P. J. Tonellato, S. Twigger, C. P. Ponting, J. M. Duarte, S. Rice, L. Goodstadt, S. A. Beatson, R. D. Emes, E. E. Winter, C. Webber, P. Brandt, G. Nyakatura, M. Adetobi, F. Chiaromonte, L. Elnitski, P. Eswara, R. C. Hardison, M. Hou, D. Kolbe, K. Makova, W. Miller, A. Nekrutenko, C. Riemer, S. Schwartz, J. Taylor, S. Yang, Y. Zhang, K. Lindpaintner, T. D. Andrews, M. Caccamo, M. Clamp, L. Clarke, V. Curwen, R. Durbin, E. Eyra, S. M. Searle, G. M. Cooper, S. Batzoglou, M. Brudno, A. Sidow, E. A. Stone, J. C. Venter, B. A. Payseur, G. Bourque, C. Lopez-Otin, X. S. Puente, K. Chakrabarti, S. Chatterji, C. Dewey, L. Pachter, N. Bray, V. B. Yap, A. Caspi, G. Tesler, P. A. Pevzner, D. Haussler, K. M. Roskin, R. Baertsch, H. Clawson, T. S. Furey, A. S. Hinrichs, D. Karolchik, W. J. Kent, K. R. Rosenbloom, H. Trumbower, M. Weirauch, D. N. Cooper, P. D. Stenson, B. Ma, M. Brent, M. Arumugam, D. Shteynberg, R. R. Copley, M. S. Taylor, H. Riethman, U. Mudunuri, J. Peterson, M. Guyer, A. Felsenfeld, S. Old, S. Mockrin and F. Collins (2004). "Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution." Nature **428**(6982): 493-521.

Glass, C. K. and M. G. Rosenfeld (2000). "The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors." Genes Dev **14**(2): 121-41.

Goldspiel, B. R. and D. R. Kohler (1990). "Flutamide: an antiandrogen for advanced prostate cancer." Dicp **24**(6): 616-23.

Gorg, A., C. Obermaier, G. Boguth, A. Harder, B. Scheibe, R. Wildgruber and W. Weiss (2000). "The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients." Electrophoresis **21**(6): 1037-53.

Gorlich, D. (1998). "Transport into and out of the cell nucleus." Embo J **17**(10): 2721-7.

Gottlieb, B., L. K. Beitel and M. A. Trifiro (2001). "Variable expressivity and mutation databases: The androgen receptor gene mutations database." Hum Mutat **17**(5): 382-8.

Gow, A., C. M. Southwood, J. S. Li, M. Pariali, G. P. Riordan, S. E. Brodie, J. Danias, J. M. Bronstein, B. Kachar and R. A. Lazzarini (1999). "CNS myelin and sertoli cell tight junction strands are absent in Osp/claudin-11 null mice." Cell **99**(6): 649-59.

Gray, L. E., Jr. and W. R. Kelce (1996). "Latent effects of pesticides and toxic substances on sexual differentiation of rodents." Toxicol Ind Health **12**(3-4): 515-31.

- Gray, L. E., Jr., W. R. Kelce, E. Monosson, J. S. Ostby and L. S. Birnbaum (1995). "Exposure to TCDD during development permanently alters reproductive function in male Long Evans rats and hamsters: reduced ejaculated and epididymal sperm numbers and sex accessory gland weights in offspring with normal androgenic status." Toxicol Appl Pharmacol **131**(1): 108-18.
- Gray, L. E., Jr., J. Ostby, E. Monosson and W. R. Kelce (1999a). "Environmental antiandrogens: low doses of the fungicide vinclozolin alter sexual differentiation of the male rat." Toxicol Ind Health **15**(1-2): 48-64.
- Gray, L. E., Jr., J. S. Ostby and W. R. Kelce (1994). "Developmental effects of an environmental antiandrogen: the fungicide vinclozolin alters sex differentiation of the male rat." Toxicol Appl Pharmacol **129**(1): 46-52.
- Gray, L. E., Jr., C. Wolf, C. Lambright, P. Mann, M. Price, R. L. Cooper and J. Ostby (1999b). "Administration of potentially antiandrogenic pesticides (procymidone, linuron, iprodione, chlozolate, p,p'-DDE, and ketoconazole) and toxic substances (dibutyl- and diethylhexyl phthalate, PCB 169, and ethane dimethane sulphonate) during sexual differentiation produces diverse profiles of reproductive malformations in the male rat." Toxicol Ind Health **15**(1-2): 94-118.
- Gray, L. E., J. Ostby, J. Furr, C. J. Wolf, C. Lambright, L. Parks, D. N. Veeramachaneni, V. Wilson, M. Price, A. Hotchkiss, E. Orlando and L. Guillette (2001). "Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals." Hum Reprod Update **7**(3): 248-64.
- Gray, T. J. and K. R. Butterworth (1980). "Testicular atrophy produced by phthalate esters." Arch Toxicol Suppl **4**: 452-5.
- Gregory, S. G., M. Sekhon, J. Schein, S. Zhao, K. Osoegawa, C. E. Scott, R. S. Evans, P. W. Burrige, T. V. Cox, C. A. Fox, R. D. Hutton, I. R. Mullenger, K. J. Phillips, J. Smith, J. Stalker, G. J. Threadgold, E. Birney, K. Wylie, A. Chinwalla, J. Wallis, L. Hillier, J. Carter, T. Gaige, S. Jaeger, C. Kremitzki, D. Layman, J. Maas, R. McGrane, K. Mead, R. Walker, S. Jones, M. Smith, J. Asano, I. Bosdet, S. Chan, S. Chittaranjan, R. Chiu, C. Fjell, D. Fuhrmann, N. Girn, C. Gray, R. Guin, L. Hsiao, M. Krzywinski, R. Kutsche, S. S. Lee, C. Mathewson, C. McLeavy, S. Messervier, S. Ness, P. Pandoh, A. L. Prabhu, P. Saeedi, D. Smailus, L. Spence, J. Stott, S. Taylor, W. Terpstra, M. Tsai, J. Vardy, N. Wye, G. Yang, S. Shatsman, B. Ayodeji, K. Geer, G. Tsegaye, A. Shvartsbeyn, E. Gebregeorgis, M. Krol, D. Russell, L. Overton, J. A. Malek, M. Holmes, M. Heaney, J. Shetty, T. Feldblyum, W. C. Nierman, J. J. Catanese, T. Hubbard, R. H. Waterston, J. Rogers, P. J. de Jong, C. M. Fraser, M. Marra, J. D. McPherson and D. R. Bentley (2002). "A physical map of the mouse genome." Nature **418**(6899): 743-50.
- Grimberg, A. and P. Cohen (2000). "Role of insulin-like growth factors and their binding proteins in growth control and carcinogenesis." J Cell Physiol **183**(1): 1-9.
- Griswold, M. D. (1993). Protein secretion by Sertoli cells: general consideration. The Sertoli cell. L. D. Russell and M. D. Griswold. Clearwater, FL, Cache river press: p196-200.
- Griswold, M. D. (1998). "The central role of Sertoli cells in spermatogenesis." Semin Cell Dev Biol **9**(4): 411-6.
- Guillette, L. J., Jr., T. S. Gross, G. R. Masson, J. M. Matter, H. F. Percival and A. R. Woodward (1994). "Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida." Environ Health Perspect **102**(8): 680-8.

Gye, M. C. and S. Ohsako (2003). "Effects of flutamide in the rat testis on the expression of occludin, an integral member of the tight junctions." Toxicol Lett **143**(2): 217-22.

Hagenas, L., E. M. Ritzen, L. Plooen, V. Hansson, F. S. French and S. N. Nayfeh (1975). "Sertoli cell origin of testicular androgen-binding protein (ABP)." Mol Cell Endocrinol **2**(5): 339-50.

Hales, D. B. (1996). Leydig cell-macrophages interactions: an overview. The Leydig cell. A. H. Payne, M. P. Hardy and L. D. Russell. Vienna, IL, Cache river press: pp451-466.

Hammar, M. and F. Petersson (1986). "Testosterone production in vitro in human testicular tissue." Andrologia **18**(2): 196-200.

Hayes, F. J., S. B. Seminara, S. Decruz, P. A. Boepple and W. F. Crowley, Jr. (2000). "Aromatase inhibition in the human male reveals a hypothalamic site of estrogen feedback." J Clin Endocrinol Metab **85**(9): 3027-35.

He, B., J. A. Kempainen, J. J. Voegel, H. Gronemeyer and E. M. Wilson (1999). "Activation function 2 in the human androgen receptor ligand binding domain mediates interdomain communication with the NH(2)-terminal domain." J Biol Chem **274**(52): 37219-25.

Heckman, W. R., B. R. Kane, R. E. Pakyz and M. J. Cosentino (1992). "The effect of ketoconazole on endocrine and reproductive parameters in male mice and rats." J Androl **13**(3): 191-8.

Heinlein, C. A. and C. Chang (2002a). "Androgen receptor (AR) coregulators: an overview." Endocr Rev **23**(2): 175-200.

Heinlein, C. A. and C. Chang (2002b). "The roles of androgen receptors and androgen-binding proteins in nongenomic androgen actions." Mol Endocrinol **16**(10): 2181-7.

Herbst, A. L., H. Ulfelder and D. C. Poskanzer (1971). "Adenocarcinoma of the vagina. Association of maternal stilbestrol therapy with tumor appearance in young women." N Engl J Med **284**(15): 878-81.

Hess, R. A. (2003). "Estrogen in the adult male reproductive tract: a review." Reprod Biol Endocrinol **1**: 52.

Hiller-Sturmhofel, S. and A. Bartke (1998). "The endocrine system: an overview." Alcohol Health Res World **22**(3): 153-64.

Hoel, D. G., D. L. Davis, A. B. Miller, E. J. Sondik and A. J. Swerdlow (1992). "Trends in cancer mortality in 15 industrialized countries, 1969-1986." J Natl Cancer Inst **84**(5): 313-20.

Hosokawa, S., M. Murakami, M. Ineyama, T. Yamada, Y. Koyama, Y. Okuno, A. Yoshitake, H. Yamada and J. Miyamoto (1993). "Effects of procymidone on reproductive organs and serum gonadotropins in male rats." J Toxicol Sci **18**(2): 111-24.

Hou, J. W., D. C. Collins and R. L. Schleicher (1990). "Sources of cholesterol for testosterone biosynthesis in murine Leydig cells." Endocrinology **127**(5): 2047-55.

Hsueh, A. J., K. D. Dahl, J. Vaughan, E. Tucker, J. Rivier, C. W. Bardin and W. Vale (1987). "Heterodimers and homodimers of inhibin subunits have different paracrine action in the modulation of luteinizing hormone-stimulated androgen biosynthesis." Proc Natl Acad Sci U S A **84**(14): 5082-6.

Hull, K. L. and S. Harvey (2000). "Growth hormone: a reproductive endocrine-paracrine regulator?" Rev Reprod **5**(3): 175-82.

Husmann, D. A. and M. J. McPhaul (1991). "Time-specific androgen blockade with flutamide inhibits testicular descent in the rat." Endocrinology **129**(3): 1409-16.

Igarashi, A., S. Ohtsu, M. Muroi and K. Tanamoto (2006). "Effects of possible endocrine disrupting chemicals on bacterial component-induced activation of NF-kappaB." Biol Pharm Bull **29**(10): 2120-2.

Ikonen, T., J. J. Palvimo and O. A. Janne (1997). "Interaction between the amino- and carboxyl-terminal regions of the rat androgen receptor modulates transcriptional activity and is influenced by nuclear receptor coactivators." J Biol Chem **272**(47): 29821-8.

ILSI-HESI. (1999). "Application of Genomics to Mechanism-based Risk Assessment." from <http://www.hesiglobal.org/Committees/TechnicalCommittees/Genomics/>.

Imperato-McGinley, J., R. S. Sanchez, J. R. Spencer, B. Yee and E. D. Vaughan (1992). "Comparison of the effects of the 5 alpha-reductase inhibitor finasteride and the antiandrogen flutamide on prostate and genital differentiation: dose-response studies." Endocrinology **131**(3): 1149-56.

Jenkins, A. D., C. P. Lechene and S. S. Howards (1983). "The effects of cyproterone acetate on the elements in the intraluminal fluids of the testis and epididymis of the rat." Arch Androl **11**(2): 151-5.

Jenster, G., H. A. van der Korput, J. Trapman and A. O. Brinkmann (1995). "Identification of two transcription activation units in the N-terminal domain of the human androgen receptor." J Biol Chem **270**(13): 7341-6.

Jenster, G., H. A. van der Korput, C. van Vroonhoven, T. H. van der Kwast, J. Trapman and A. O. Brinkmann (1991). "Domains of the human androgen receptor involved in steroid binding, transcriptional activation, and subcellular localization." Mol Endocrinol **5**(10): 1396-404.

Johnstone, R. M., G. S. Court, A. C. Fesser, D. M. Bradley, L. W. Oliphant and J. D. MacNeil (1996). "Long-term trends and sources of organochlorine contamination in Canadian tundra Peregrine Falcons, *Falco peregrinus tundrius*." Environ Pollut **93**(2): 109-20.

Joseph, D. R., D. A. O'Brien, P. M. Sullivan, M. Becchis, J. K. Tsuruta and P. Petrusz (1997). "Overexpression of androgen-binding protein/sex hormone-binding globulin in male transgenic mice: tissue distribution and phenotypic disorders." Biol Reprod **56**(1): 21-32.

Kanno, J., L. Onyon, J. Haseman, P. Fenner-Crisp, J. Ashby and W. Owens (2001). "The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay to screen compounds for in vivo estrogenic responses: phase 1." Environ Health Perspect **109**(8): 785-94.

- Kanno, J., L. Onyon, S. Peddada, J. Ashby, E. Jacob and W. Owens (2003a). "The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay. Phase 2: coded single-dose studies." Environ Health Perspect **111**(12): 1550-8.
- Kanno, J., L. Onyon, S. Peddada, J. Ashby, E. Jacob and W. Owens (2003b). "The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay. Phase 2: dose-response studies." Environ Health Perspect **111**(12): 1530-49.
- Karas, M. and F. Hillenkamp (1988). "Laser desorption ionization of proteins with molecular masses exceeding 10,000 daltons." Anal Chem **60**(20): 2299-301.
- Katchen, B. and S. Buxbaum (1975). "Disposition of a new, nonsteroid, antiandrogen, alpha,alpha,alpha-trifluoro-2-methyl-4'-nitro-m-propionotoluidide (Flutamide), in men following a single oral 200 mg dose." J Clin Endocrinol Metab **41**(2): 373-9.
- Kaufman, R. H., E. Adam, E. E. Hatch, K. Noller, A. L. Herbst, J. R. Palmer and R. N. Hoover (2000). "Continued follow-up of pregnancy outcomes in diethylstilbestrol-exposed offspring." Obstet Gynecol **96**(4): 483-9.
- Kelce, W. R., L. E. Gray and E. M. Wilson (1998). "Antiandrogens as environmental endocrine disruptors." Reprod Fertil Dev **10**(1): 105-11.
- Kelce, W. R., C. R. Lambright, L. E. Gray, Jr. and K. P. Roberts (1997). "Vinclozolin and p,p'-DDE alter androgen-dependent gene expression: in vivo confirmation of an androgen receptor-mediated mechanism." Toxicol Appl Pharmacol **142**(1): 192-200.
- Kelce, W. R., E. Monosson, M. P. Gamcsik, S. C. Laws and L. E. Gray, Jr. (1994). "Environmental hormone disruptors: evidence that vinclozolin developmental toxicity is mediated by antiandrogenic metabolites." Toxicol Appl Pharmacol **126**(2): 276-85.
- Kelce, W. R., C. R. Stone, S. C. Laws, L. E. Gray, J. A. Kemppainen and E. M. Wilson (1995). "Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist." Nature **375**(6532): 581-5.
- Kelce, W. R. and E. M. Wilson (1997). "Environmental antiandrogens: developmental effects, molecular mechanisms, and clinical implications." J Mol Med **75**(3): 198-207.
- Kemppainen, J. A., M. V. Lane, M. Sar and E. M. Wilson (1992). "Androgen receptor phosphorylation, turnover, nuclear transport, and transcriptional activation. Specificity for steroids and antihormones." J Biol Chem **267**(2): 968-74.
- Kemppainen, J. A. and E. M. Wilson (1996). "Agonist and antagonist activities of hydroxyflutamide and Casodex relate to androgen receptor stabilization." Urology **48**(1): 157-63.
- Kendzierski, C., R. A. Irizarry, K. S. Chen, J. D. Haag and M. N. Gould (2005). "On the utility of pooling biological samples in microarray experiments." Proc Natl Acad Sci U S A **102**(12): 4252-7.
- Kendzierski, C. M., Y. Zhang, H. Lan and A. D. Attie (2003). "The efficiency of pooling mRNA in microarray experiments." Biostatistics **4**(3): 465-77.
- Kennel, P. F., C. T. Pallen and R. G. Bars (2004). "Evaluation of the rodent Hershberger assay using three reference endocrine disruptors (androgen and antiandrogens)." Reprod Toxicol **18**(1): 63-73.

- Kerr, J. B., S. Maddocks and R. M. Sharpe (1992). "Testosterone and FSH have independent, synergistic and stage-dependent effects upon spermatogenesis in the rat testis." Cell Tissue Res **268**(1): 179-89.
- Kim, H. S., S. Y. Han, S. D. Yoo, B. M. Lee and K. L. Park (2001). "Potential estrogenic effects of bisphenol-A estimated by in vitro and in vivo combination assays." J Toxicol Sci **26**(3): 111-8.
- Kogevinas, M. (2001). "Human health effects of dioxins: cancer, reproductive and endocrine system effects." Hum Reprod Update **7**(3): 331-9.
- Kubota, K., S. Ohsako, S. Kurosawa, K. Takeda, W. Qing, M. Sakae, T. Kawakami, R. Ishimura and C. Tohyama (2003). "Effects of vinclozolin administration on sperm production and testosterone biosynthetic pathway in adult male rat." J Reprod Dev **49**(5): 403-12.
- Kuiper, G. G. and A. O. Brinkmann (1995). "Phosphotryptic peptide analysis of the human androgen receptor: detection of a hormone-induced phosphopeptide." Biochemistry **34**(6): 1851-7.
- Kuiper, G. G., B. Carlsson, K. Grandien, E. Enmark, J. Haggblad, S. Nilsson and J. A. Gustafsson (1997). "Comparison of the ligand binding specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta." Endocrinology **138**(3): 863-70.
- Kunimatsu, T., T. Yamada, K. Miyata, S. Yabushita, T. Seki, Y. Okuno and M. Matsuo (2004). "Evaluation for reliability and feasibility of the draft protocol for the enhanced rat 28-day subacute study (OECD Guideline 407) using androgen antagonist flutamide." Toxicology **200**(1): 77-89.
- Labrie, F. (2004). "Adrenal androgens and intracrinology." Semin Reprod Med **22**(4): 299-309.
- Laemmli, U. K. (1970). "Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4." Nature **227**(5259): 680-5.
- Lahousse, S. A., D. G. Wallace, D. Liu, K. W. Gaido and K. J. Johnson (2006). "Testicular gene expression profiling following prepubertal rat mono-(2-ethylhexyl) phthalate exposure suggests a common initial genetic response at fetal and prepubertal ages." Toxicol Sci **93**(2): 369-81.
- Lambard, S., D. Silandre, C. Delalande, I. Denis-Galeraud, S. Bourguiba and S. Carreau (2005). "Aromatase in testis: expression and role in male reproduction." J Steroid Biochem Mol Biol **95**(1-5): 63-9.
- Lambright, C., J. Ostby, K. Bobseine, V. Wilson, A. K. Hotchkiss, P. C. Mann and L. E. Gray, Jr. (2000). "Cellular and molecular mechanisms of action of linuron: an antiandrogenic herbicide that produces reproductive malformations in male rats." Toxicol Sci **56**(2): 389-99.
- Leblond, C. P. and Y. Clermont (1952). "Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat." Ann N Y Acad Sci **55**(4): 548-73.
- Lecureuil, C., C. Staub, S. Fouchecourt, M. C. Maurel, I. Fontaine, N. Martinat, C. Gauthier, A. Daudignon, B. Delaleu, A. Sow, B. Jegou and F. Guillou (2007). "Transferrin overexpression alters testicular function in aged mice." Mol Reprod Dev **74**(2): 197-206.

- Lee, D. Y., S. S. Lee, W. A. Joo, E. J. Lee and C. W. Kim (2004). "Analysis of differentially regulated proteins in TM4 cells treated with bisphenol A." Biosci Biotechnol Biochem **68**(6): 1201-8.
- Leeson, C. R. (1963). "Observations on the fine structure of rat interstitial tissue." Acta Anat (Basel) **52**: 34-48.
- Leighton, J. K. (2005). "Application of emerging technologies in toxicology and safety assessment: regulatory perspectives." Int J Toxicol **24**(3): 153-5.
- Levallet, J., B. Bilinska, H. Mittre, C. Genissel, J. Fresnel and S. Carreau (1998). "Expression and immunolocalization of functional cytochrome P450 aromatase in mature rat testicular cells." Biol Reprod **58**(4): 919-26.
- Lim, K., J. H. Yoo, K. Y. Kim, G. R. Kweon, S. T. Kwak and B. D. Hwang (1994). "Testosterone regulation of proto-oncogene c-myc expression in primary Sertoli cell cultures from prepubertal rats." J Androl **15**(6): 543-50.
- Lin, T., J. K. Calkins, P. L. Morris, W. Vale and C. W. Bardin (1989). "Regulation of Leydig cell function in primary culture by inhibin and activin." Endocrinology **125**(4): 2134-40.
- Lindsey, J. S. and M. F. Wilkinson (1996). "Pem: a testosterone- and LH-regulated homeobox gene expressed in mouse Sertoli cells and epididymis." Dev Biol **179**(2): 471-84.
- Liu, K., K. P. Lehmann, M. Sar, S. S. Young and K. W. Gaido (2005). "Gene expression profiling following in utero exposure to phthalate esters reveals new gene targets in the etiology of testicular dysgenesis." Biol Reprod **73**(1): 180-92.
- Loveland, K. L. and S. Schlatt (1997). "Stem cell factor and c-kit in the mammalian testis: lessons originating from Mother Nature's gene knockouts." J Endocrinol **153**(3): 337-44.
- Lubahn, D. B., D. R. Joseph, P. M. Sullivan, H. F. Willard, F. S. French and E. M. Wilson (1988). "Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome." Science **240**(4850): 327-30.
- Lubahn, D. B., J. S. Moyer, T. S. Golding, J. F. Couse, K. S. Korach and O. Smithies (1993). "Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene." Proc Natl Acad Sci U S A **90**(23): 11162-6.
- M**acchi, M. M. and J. N. Bruce (2004). "Human pineal physiology and functional significance of melatonin." Front Neuroendocrinol **25**(3-4): 177-95.
- Maffini, M. V., B. S. Rubin, C. Sonnenschein and A. M. Soto (2006). "Endocrine disruptors and reproductive health: the case of bisphenol-A." Mol Cell Endocrinol **254-255**: 179-86.
- Mahendroo, M. S. and D. W. Russell (1999). "Male and female isoenzymes of steroid 5alpha-reductase." Rev Reprod **4**(3): 179-83.
- Mainwaring, W. I. P., S. A. Haining and B. Harper (1988). The functions of testosterone and its metabolites. Hormones and their actions. B. A. Cooke, R. J. B. King and H. J. van der Molen. Amsterdam, Elsevier: pp169-196.

- Maire, M., A. Florin, K. Kaszas, D. Regnier, P. Contard, E. Tabone, C. Mauduit, R. Bars and M. Benahmed (2005). "Alteration of transforming growth factor-beta signaling system expression in adult rat germ cells with a chronic apoptotic cell death process after fetal androgen disruption." Endocrinology **146**(12): 5135-43.
- Majdic, G., A. S. McNeilly, R. M. Sharpe, L. R. Evans, N. P. Groome and P. T. Saunders (1997). "Testicular expression of inhibin and activin subunits and follistatin in the rat and human fetus and neonate and during postnatal development in the rat." Endocrinology **138**(5): 2136-47.
- Mandal, P. K. (2005). "Dioxin: a review of its environmental effects and its aryl hydrocarbon receptor biology." J Comp Physiol [B] **175**(4): 221-30.
- Marchetti, B. and F. Labrie (1988). "Characteristics of flutamide action on prostatic and testicular functions in the rat." J Steroid Biochem **29**(6): 691-8.
- Mathur, P. P., J. Grima, M. Y. Mo, L. J. Zhu, G. R. Aravindan, K. Calcagno, M. O'Bryan, S. Chung, D. Mruk, W. M. Lee, B. Silvestrini and C. Y. Cheng (1997). "Differential expression of multiple cathepsin mRNAs in the rat testis during maturation and following lonidamine induced tissue restructuring." Biochem Mol Biol Int **42**(2): 217-33.
- Matsumoto, A. M. and W. J. Bremner (1984). "Modulation of pulsatile gonadotropin secretion by testosterone in man." J Clin Endocrinol Metab **58**(4): 609-14.
- McIntyre, B. S., N. J. Barlow and P. M. Foster (2001). "Androgen-mediated development in male rat offspring exposed to flutamide in utero: permanence and correlation of early postnatal changes in anogenital distance and nipple retention with malformations in androgen-dependent tissues." Toxicol Sci **62**(2): 236-49.
- McIntyre, B. S., N. J. Barlow, D. G. Wallace, S. C. Maness, K. W. Gaido and P. M. Foster (2000). "Effects of in utero exposure to linuron on androgen-dependent reproductive development in the male Crl:CD(SD)BR rat." Toxicol Appl Pharmacol **167**(2): 87-99.
- McLachlan, J. A., E. Simpson and M. Martin (2006). "Endocrine disrupters and female reproductive health." Best Pract Res Clin Endocrinol Metab **20**(1): 63-75.
- McLachlan, R. I. (2000). "The endocrine control of spermatogenesis." Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab **14**(3): 345-62.
- McLachlan, R. I., N. G. Wreford, S. J. Meachem, D. M. De Kretser and D. M. Robertson (1994). "Effects of testosterone on spermatogenic cell populations in the adult rat." Biol Reprod **51**(5): 945-55.
- McPherson, J. D., M. Marra, L. Hillier, R. H. Waterston, A. Chinwalla, J. Wallis, M. Sekhon, K. Wylie, E. R. Mardis, R. K. Wilson, R. Fulton, T. A. Kucaba, C. Wagner-McPherson, W. B. Barbazuk, S. G. Gregory, S. J. Humphray, L. French, R. S. Evans, G. Bethel, A. Whittaker, J. L. Holden, O. T. McCann, A. Dunham, C. Soderlund, C. E. Scott, D. R. Bentley, G. Schuler, H. C. Chen, W. Jang, E. D. Green, J. R. Idol, V. V. Maduro, K. T. Montgomery, E. Lee, A. Miller, S. Emerling, Kucherlapati, R. Gibbs, S. Scherer, J. H. Gorrell, E. Sodergren, K. Clerc-Blankenburg, P. Tabor, S. Naylor, D. Garcia, P. J. de Jong, J. J. Catanese, N. Nowak, K. Osoegawa, S. Qin, L. Rowen, A. Madan, M. Dors, L. Hood, B. Trask, C. Friedman, H. Massa, V. G. Cheung, I. R. Kirsch, T. Reid, R. Yonescu, J. Weissenbach, T. Bruls, R. Heilig, E. Branscomb, A. Olsen, N. Doggett, J. F. Cheng, T. Hawkins, R. M. Myers, J. Shang, L. Ramirez, J. Schmutz, O. Velasquez, K. Dixon, N. E. Stone, D. R. Cox, D. Haussler, W. J. Kent, T. Furey, S. Rogic, S. Kennedy, S. Jones, A. Rosenthal, G. Wen, M. Schilhabel, G. Gloeckner, G. Nyakatura,

- R. Siebert, B. Schlegelberger, J. Korenberg, X. N. Chen, A. Fujiyama, M. Hattori, A. Toyoda, T. Yada, H. S. Park, Y. Sakaki, N. Shimizu, S. Asakawa, K. Kawasaki, T. Sasaki, A. Shintani, A. Shimizu, K. Shibuya, J. Kudoh, S. Minoshima, J. Ramser, P. Seranski, C. Hoff, A. Poustka, R. Reinhardt and H. Lehrach (2001). "A physical map of the human genome." Nature **409**(6822): 934-41.
- Merrick, B. A. and M. E. Bruno (2004). "Genomic and proteomic profiling for biomarkers and signature profiles of toxicity." Curr Opin Mol Ther **6**(6): 600-7.
- Merrick, B. A. and J. H. Madenspacher (2005). "Complementary gene and protein expression studies and integrative approaches in toxicogenomics." Toxicol Appl Pharmacol **207**(2 Suppl): 189-94.
- Messingham, K. A., K. A. Messingham, M. Shirazi, L. A. Duffner, L. A. Duffner, M. A. Emanuele, E. J. Kovacs, E. J. Kovacs, E. J. Kovacs and E. J. Kovacs (2001). "Testosterone receptor blockade restores cellular immunity in male mice after burn injury." J Endocrinol **169**(2): 299-308.
- Meunier, H., C. Rivier, R. M. Evans and W. Vale (1988). "Gonadal and extragonadal expression of inhibin alpha, beta A, and beta B subunits in various tissues predicts diverse functions." Proc Natl Acad Sci U S A **85**(1): 247-51.
- Mitra, K., N. Rangaraj and S. Shivaji (2005). "Novelty of the pyruvate metabolic enzyme dihydrolipoamide dehydrogenase in spermatozoa: correlation of its localization, tyrosine phosphorylation, and activity during sperm capacitation." J Biol Chem **280**(27): 25743-53.
- Miyata, K., S. Yabushita, T. Sukata, M. Sano, H. Yoshino, T. Nakanishi, Y. Okuno and M. Matsuo (2002). "Effects of perinatal exposure to flutamide on sex hormones and androgen-dependent organs in F1 male rats." J Toxicol Sci **27**(1): 19-33.
- Mizrak, S. C., J. Bogerd, P. P. Lopez-Casas, M. Parraga, J. Del Mazo and D. G. de Rooij (2006). "Expression of stress inducible protein 1 (Stip1) in the mouse testis." Mol Reprod Dev **73**(11): 1361-6.
- Monosson, E., W. R. Kelce, C. Lambright, J. Ostby and L. E. Gray, Jr. (1999). "Peripubertal exposure to the antiandrogenic fungicide, vinclozolin, delays puberty, inhibits the development of androgen-dependent tissues, and alters androgen receptor function in the male rat." Toxicol Ind Health **15**(1-2): 65-79.
- Moore, R. W., C. R. Jefcoate and R. E. Peterson (1991). "2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin inhibits steroidogenesis in the rat testis by inhibiting the mobilization of cholesterol to cytochrome P450_{sc}." Toxicol Appl Pharmacol **109**(1): 85-97.
- Morris, M. D. and I. L. Chaikoff (1959). "The origin of cholesterol in liver, small intestine, adrenal gland, and testis of the rat: dietary versus endogenous contributions." J Biol Chem **234**(5): 1095-7.
- Mruk, D. D. and C. Y. Cheng (2004). "Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis." Endocr Rev **25**(5): 747-806.
- Mu, X., K. Liu, E. Kleymenova, M. Sar, S. S. Young and K. W. Gaido (2006). "Gene expression profiling of androgen receptor antagonists in the rat fetal testis reveals few common gene targets." J Biochem Mol Toxicol **20**(1): 7-17.

Muffly, K. E., S. J. Nazian and D. F. Cameron (1994). "Effects of follicle-stimulating hormone on the junction-related Sertoli cell cytoskeleton and daily sperm production in testosterone-treated hypophysectomized rats." Biol Reprod **51**(1): 158-66.

Mylchreest, E., M. Sar, R. C. Cattley and P. M. Foster (1999). "Disruption of androgen-regulated male reproductive development by di(n-butyl) phthalate during late gestation in rats is different from flutamide." Toxicol Appl Pharmacol **156**(2): 81-95.

Newbold, R. R. (2004). "Lessons learned from perinatal exposure to diethylstilbestrol." Toxicol Appl Pharmacol **199**(2): 142-50.

NIEHS. (2000). "National Center for Toxicogenomics (NCT)." from <http://www.niehs.nih.gov/nct/home.htm>, <http://dir.niehs.nih.gov/proteomics/activity.htm>.

Normington, K. and D. W. Russell (1992). "Tissue distribution and kinetic characteristics of rat steroid 5 alpha-reductase isozymes. Evidence for distinct physiological functions." J Biol Chem **267**(27): 19548-54.

Nussey, S. S. and S. A. Whitehead (2001). Endocrinology - An Integrated Approach. Oxford, UK.

OBryan, M. K., J. Grima, D. Mruk and C. Y. Cheng (1997). "Haptoglobin is a Sertoli cell product in the rat seminiferous epithelium: its purification and regulation." J Androl **18**(6): 637-45.

O'Connor, J. C., J. C. Cook, T. W. Slone, G. T. Makovec, S. R. Frame and L. G. Davis (1998). "An ongoing validation of a Tier I screening battery for detecting endocrine-active compounds (EACs)." Toxicol Sci **46**(1): 45-60.

O'Connor, J. C., S. R. Frame, L. G. Davis and J. C. Cook (1999). "Detection of the environmental antiandrogen p,p-DDE in CD and long-evans rats using a tier I screening battery and a Hershberger assay." Toxicol Sci **51**(1): 44-53.

O'Connor, J. C., S. R. Frame and G. S. Ladics (2002). "Evaluation of a 15-day screening assay using intact male rats for identifying antiandrogens." Toxicol Sci **69**(1): 92-108.

O'Donnell, L., R. I. McLachlan, N. G. Wreford, D. M. de Kretser and D. M. Robertson (1996). "Testosterone withdrawal promotes stage-specific detachment of round spermatids from the rat seminiferous epithelium." Biol Reprod **55**(4): 895-901.

O'Donnell, L., K. M. Robertson, M. E. Jones and E. R. Simpson (2001). "Estrogen and spermatogenesis." Endocr Rev **22**(3): 289-318.

O'Farrell, P. H. (1975). "High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins." J Biol Chem **250**(10): 4007-21.

O'Shaughnessy, P. J., H. Johnston, L. Willerton and P. J. Baker (2002). "Failure of normal adult Leydig cell development in androgen-receptor-deficient mice." J Cell Sci **115**(Pt 17): 3491-6.

O'Shaughnessy, P. J. and L. Murphy (1991). "Steroidogenic enzyme activity in the rat testis following Leydig cell destruction by ethylene-1,2-dimethanesulphonate and during subsequent Leydig cell regeneration." J Endocrinol **131**(3): 451-7.

- O'Shaughnessy, P. J. and A. H. Payne (1982). "Differential effects of single and repeated administration of gonadotropins on testosterone production and steroidogenic enzymes in Leydig cell populations." J Biol Chem **257**(19): 11503-9.
- Oakberg, E. F. (1956). "Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stages of the cycle of the seminiferous epithelium." Am J Anat **99**(3): 507-16.
- OCDE. (1996). "Endocrine Disrupter Testing and Assessment." from http://www.oecd.org/document/62/0,2340,fr_2649_201185_2348606_1_1_1_1,00.html.
- Ohsako, S., K. Kubota, S. Kurosawa, K. Takeda, W. Qing, R. Ishimura and C. Tohyama (2003). "Alterations of gene expression in adult male rat testis and pituitary shortly after subacute administration of the antiandrogen flutamide." J Reprod Dev **49**(4): 275-90.
- Okahara, A., A. Nomura, H. Tanioka, H. Sakamoto, K. Yamashita and T. Ikuse (2000). "Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats 5). Effects of repeated doses of flutamide for 2 and 4 weeks." J Toxicol Sci **25 Spec No**: 63-70.
- Oliva, R. (2006). "Protamines and male infertility." Hum Reprod Update **12**(4): 417-35.
- Olsson, M., B. Karlsson and E. Ahnland (1994). "Diseases and environmental contaminants in seals from the Baltic and the Swedish west coast." Sci Total Environ **154**(2-3): 217-27.
- Omezzine, A., S. Chater, C. Mauduit, A. Florin, E. Tabone, F. Chuzel, R. Bars and M. Benahmed (2003). "Long-term apoptotic cell death process with increased expression and activation of caspase-3 and -6 in adult rat germ cells exposed in utero to flutamide." Endocrinology **144**(2): 648-61.
- Ostby, J., W. R. Kelce, C. Lambright, C. J. Wolf, P. Mann and L. E. Gray, Jr. (1999). "The fungicide procymidone alters sexual differentiation in the male rat by acting as an androgen-receptor antagonist in vivo and in vitro." Toxicol Ind Health **15**(1-2): 80-93.
- Owens, W., E. Zeiger, M. Walker, J. Ashby, L. Onyon and L. E. Gray, Jr. (2006). "The OECD program to validate the rat Hershberger bioassay to screen compounds for in vivo androgen and antiandrogen responses. Phase 1: use of a potent agonist and a potent antagonist to test the standardized protocol." Environ Health Perspect **114**(8): 1259-65.
- P**arazzini, F., C. La Vecchia, F. Levi and S. Franceschi (1998). "Trends in male:female ratio among newborn infants in 29 countries from five continents." Hum Reprod **13**(5): 1394-6.
- Parks, L. G., J. S. Ostby, C. R. Lambright, B. D. Abbott, G. R. Klinefelter, N. J. Barlow and L. E. Gray, Jr. (2000). "The plasticizer diethylhexyl phthalate induces malformations by decreasing fetal testosterone synthesis during sexual differentiation in the male rat." Toxicol Sci **58**(2): 339-49.
- Parvinen, M. (1982). "Regulation of the seminiferous epithelium." Endocr Rev **3**(4): 404-17.
- Paulozzi, L. J. (1999). "International trends in rates of hypospadias and cryptorchidism." Environ Health Perspect **107**(4): 297-302.

- Payne, A. H. and P. J. O'Shaughnessy (1996). Structure, function and regulation of steroidogenic enzymes in the leydig cells. The leydig cell. A. H. Payne, M. P. Hardy and L. D. Russell. Vienna, IL, Cache river press: pp260-285.
- Peart, W. S. (1977). "The kidney as an endocrine organ." Lancet **2**(8037): 543-8.
- Peets, E. A., M. F. Henson and R. Neri (1974). "On the mechanism of the anti-androgenic action of flutamide (alpha-alpha-alpha-trifluoro-2-methyl-4'-nitro-m-propionotoluidide) in the rat." Endocrinology **94**(2): 532-40.
- Pelletier, G., C. Labrie and F. Labrie (2000). "Localization of oestrogen receptor alpha, oestrogen receptor beta and androgen receptors in the rat reproductive organs." J Endocrinol **165**(2): 359-70.
- Pepper, G., S. H. Brenner and J. L. Gabilove (1990). "Ketoconazole use in the treatment of ovarian hyperandrogenism." Fertil Steril **54**(3): 438-44.
- Peters, M. A., J. A. Mol, M. E. van Wolferen, M. A. Oosterlaken-Dijksterhuis, K. J. Teerds and F. J. van Sluijs (2003). "Expression of the insulin-like growth factor (IGF) system and steroidogenic enzymes in canine testis tumors." Reprod Biol Endocrinol **1**: 22.
- Petrusz, P., D. A. Jeyaraj and G. Grossman (2005). "Microarray analysis of androgen-regulated gene expression in testis: the use of the androgen-binding protein (ABP)-transgenic mouse as a model." Reprod Biol Endocrinol **3**: 70.
- Pierroz, D. D., A. C. Aebi, I. T. Huhtaniemi and M. L. Aubert (1999). "Many LH peaks are needed to physiologically stimulate testosterone secretion: modulation by fasting and NPY." Am J Physiol **276**(4 Pt 1): E603-10.
- Poujol, N. and C. Sultan (2000). "Action moléculaire des androgènes et relation structure-fonction du récepteur des androgènes." médecine/sciences **16**: 793-802.
- Quigley, C. A., A. De Bellis, K. B. Marschke, M. K. el-Awady, E. M. Wilson and F. S. French (1995). "Androgen receptor defects: historical, clinical, and molecular perspectives." Endocr Rev **16**(3): 271-321.
- Rabilloud, T. (1998). "Use of thiourea to increase the solubility of membrane proteins in two-dimensional electrophoresis." Electrophoresis **19**(5): 758-60.
- Rabilloud, T. (1999). "Solubilization of proteins in 2-D electrophoresis. An outline." Methods Mol Biol **112**: 9-19.
- Ramagli, L. S. and L. V. Rodriguez (1985). "Quantitation of microgram amounts of protein in two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis sample buffer." Electrophoresis **6**(11): 559-563.
- Reijnders, P. J. (1986). "Reproductive failure in common seals feeding on fish from polluted coastal waters." Nature **324**(6096): 456-7.
- Reynolds, V. L. (2005). "Applications of emerging technologies in toxicology and safety assessment." Int J Toxicol **24**(3): 135-7.
- Roche, P. J., S. A. Hoare and M. G. Parker (1992). "A consensus DNA-binding site for the androgen receptor." Mol Endocrinol **6**(12): 2229-35.

- Rosen, M. B., V. S. Wilson, J. E. Schmid and L. E. Gray (2005). "Gene expression analysis in the ventral prostate of rats exposed to vinclozolin or procymidone." Reprod Toxicol **19**(3): 367-79.
- Russell, L. (1977). "Observations on rat Sertoli ectoplasmic ('junctional') specializations in their association with germ cells of the rat testis." Tissue Cell **9**(3): 475-98.
- Russell, L. D. (1993). Form, dimension, and cytology of mammalian sertoli cells. The sertoli cell. L. D. Russell and M. D. Griswold. Clearwater, FL, Cache river press: p2-37.
- Russell, L. D. and Y. Clermont (1977). "Degeneration of germ cells in normal, hypophysectomized and hormone treated hypophysectomized rats." Anat Rec **187**(3): 347-66.
- Russell, L. D., H. P. Ren, I. Sinha Hikim, W. Schulze and A. P. Sinha Hikim (1990). "A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes, and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell." Am J Anat **188**(1): 21-30.
- Sadate-Ngatchou, P. I., D. J. Pouchnik and M. D. Griswold (2004). "Identification of testosterone-regulated genes in testes of hypogonadal mice using oligonucleotide microarray." Mol Endocrinol **18**(2): 422-33.
- Saez, J. M. (1994). "Leydig cells: endocrine, paracrine, and autocrine regulation." Endocr Rev **15**(5): 574-626.
- Safe, S. (2001). "Molecular biology of the Ah receptor and its role in carcinogenesis." Toxicol Lett **120**(1-3): 1-7.
- Sairam, M. R. and H. Krishnamurthy (2001). "The role of follicle-stimulating hormone in spermatogenesis: lessons from knockout animal models." Arch Med Res **32**(6): 601-8.
- Sandberg, A. A. and W. R. Slaunwhite, Jr. (1956). "Metabolism of 4-C¹⁴-testosterone in human subjects. I. Distribution in bile, blood, feces and urine." J Clin Invest **35**(12): 1331-9.
- Schantz, S. L. and J. J. Widholm (2001). "Cognitive effects of endocrine-disrupting chemicals in animals." Environ Health Perspect **109**(12): 1197-206.
- Schettler, T. (2006). "Human exposure to phthalates via consumer products." Int J Androl **29**(1): 134-9; discussion 181-5.
- Schrager, S. and B. E. Potter (2004). "Diethylstilbestrol exposure." Am Fam Physician **69**(10): 2395-400.
- Schulze, W. and U. Rehder (1984). "Organization and morphogenesis of the human seminiferous epithelium." Cell Tissue Res **237**(3): 395-407.
- Schurmeyer, T. and E. Nieschlag (1984). "Effect of ketoconazole and other imidazole fungicides on testosterone biosynthesis." Acta Endocrinol (Copenh) **105**(2): 275-80.
- Shaffer, P. L., A. Jivan, D. E. Dollins, F. Claessens and D. T. Gewirth (2004). "Structural basis of androgen receptor binding to selective androgen response elements." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(14): 4758-63.

- Sharpe, R. M. and N. E. Skakkebaek (1993). "Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract?" Lancet **341**(8857): 1392-5.
- Sheckter, C. B., A. M. Matsumoto and W. J. Bremner (1989). "Testosterone administration inhibits gonadotropin secretion by an effect directly on the human pituitary." J Clin Endocrinol Metab **68**(2): 397-401.
- Shultz, V. D., S. Phillips, M. Sar, P. M. Foster and K. W. Gaido (2001). "Altered gene profiles in fetal rat testes after in utero exposure to di(n-butyl) phthalate." Toxicol Sci **64**(2): 233-42.
- Simard, J., I. Luthy, J. Guay, A. Belanger and F. Labrie (1986). "Characteristics of interaction of the antiandrogen flutamide with the androgen receptor in various target tissues." Mol Cell Endocrinol **44**(3): 261-70.
- Simoni, M., J. Gromoll and E. Nieschlag (1997). "The follicle-stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology." Endocr Rev **18**(6): 739-73.
- Simpson, E. R. (2000). "Role of aromatase in sex steroid action." J Mol Endocrinol **25**(2): 149-56.
- Skinner, M. K. and M. D. Griswold (1980). "Sertoli cells synthesize and secrete transferrin-like protein." J Biol Chem **255**(20): 9523-5.
- Slaunwhite, W. R., Jr. and L. T. Samuels (1956). "Progesterone as a precursor of testicular androgens." J Biol Chem **220**(1): 341-52.
- Smith, E. P., B. A. Dickson and S. D. Chernauek (1990). "Insulin-like growth factor binding protein-3 secretion from cultured rat sertoli cells: dual regulation by follicle stimulating hormone and insulin-like growth factor-I." Endocrinology **127**(6): 2744-51.
- Sriraman, V., M. Anbalagan and A. J. Rao (2005). "Hormonal regulation of Leydig cell proliferation and differentiation in rodent testis: a dynamic interplay between gonadotrophins and testicular factors." Reprod Biomed Online **11**(4): 507-18.
- Stalvey, J. R. and S. M. Clavey (1992). "Evidence that testosterone regulates Leydig cell 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase-isomerase activity by a trans-acting factor distal to the androgen receptor." J Androl **13**(1): 93-9.
- Stark, A. and Z. Madar (2002). "Phytoestrogens: a review of recent findings." J Pediatr Endocrinol Metab **15**(5): 561-72.
- Steinberger, A. (1979). "Inhibin production by Sertoli cells in culture." J Reprod Fertil Suppl(26): 31-45.
- Sutton, K. A., S. Maiti, W. A. Tribble, J. S. Lindsey, M. L. Meistrich, C. D. Bucana, B. M. Sanborn, D. R. Joseph, M. D. Griswold, G. A. Cornwall and M. F. Wilkinson (1998). "Androgen regulation of the Pcm homeodomain gene in mice and rat Sertoli and epididymal cells." J Androl **19**(1): 21-30.
- Swan, S. H. (2000). "Intrauterine exposure to diethylstilbestrol: long-term effects in humans." Apmis **108**(12): 793-804.
- Swan, S. H., E. P. Elkin and L. Fenster (2000). "The question of declining sperm density revisited: an analysis of 101 studies published 1934-1996." Environ Health Perspect **108**(10): 961-6.

- T**eerds, K. J., M. de Boer-Brouwer, J. H. Dorrington, M. Balvers and R. Ivell (1999). "Identification of markers for precursor and leydig cell differentiation in the adult rat testis following ethane dimethyl sulphonate administration." Biol Reprod **60**(6): 1437-45.
- Teilmann, G., A. Juul, N. E. Skakkebaek and J. Toppari (2002). "Putative effects of endocrine disrupters on pubertal development in the human." Best Pract Res Clin Endocrinol Metab **16**(1): 105-21.
- Themmen, A. P. N. and I. T. Huhtaniemi (2000). "Mutations of gonadotropins and gonadotropin receptors: elucidating the physiology and pathophysiology of pituitary-gonadal function." Endocr Rev **21**(5): 551-83.
- Tomaszewska, D. and F. Przekop (1997). "The immune-neuro-endocrine interactions." J Physiol Pharmacol **48**(2): 139-58.
- Toppari, J., M. Kaleva and H. E. Virtanen (2001). "Trends in the incidence of cryptorchidism and hypospadias, and methodological limitations of registry-based data." Hum Reprod Update **7**(3): 282-6.
- Toppari, J., J. C. Larsen, P. Christiansen, A. Giwercman, P. Grandjean, L. J. Guillette, Jr., B. Jegou, T. K. Jensen, P. Jouannet, N. Keiding, H. Leffers, J. A. McLachlan, O. Meyer, J. Muller, E. Rajpert-De Meyts, T. Scheike, R. Sharpe, J. Sumpter and N. E. Skakkebaek (1996). "Male reproductive health and environmental xenoestrogens." Environ Health Perspect **104 Suppl 4**: 741-803.
- Toyoda, K., M. Shibutani, T. Tamura, T. Koujitani, C. Uneyama and M. Hirose (2000). "Repeated dose (28 days) oral toxicity study of flutamide in rats, based on the draft protocol for the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for screening for endocrine-disrupting chemicals." Arch Toxicol **74**(3): 127-32.
- Tsuruta, J. K., D. A. O'Brien and M. D. Griswold (1993). "Sertoli cell and germ cell cystatin C: stage-dependent expression of two distinct messenger ribonucleic acid transcripts in rat testes." Biol Reprod **49**(5): 1045-54.
- Turner, K. J., M. Morley, S. MacPherson, M. R. Millar, J. A. Wilson, R. M. Sharpe and P. T. Saunders (2001). "Modulation of gene expression by androgen and oestrogens in the testis and prostate of the adult rat following androgen withdrawal." Mol Cell Endocrinol **178**(1-2): 73-87.
- U**sui, T. (2006). "Pharmaceutical prospects of phytoestrogens." Endocr J **53**(1): 7-20.
- V**an der Kraak, G. J., K. R. Munkittrick, M. E. McMaster, C. B. Portt and J. P. Chang (1992). "Exposure to bleached kraft pulp mill effluent disrupts the pituitary-gonadal axis of white sucker at multiple sites." Toxicol Appl Pharmacol **115**(2): 224-33.
- van Lith, M., N. Hartigan, J. Hatch and A. M. Benham (2005). "PDILT, a divergent testis-specific protein disulfide isomerase with a non-classical SXXC motif that engages in disulfide-dependent interactions in the endoplasmic reticulum." J Biol Chem **280**(2): 1376-83.

- Veldscholte, J., C. A. Berrevoets, N. D. Zegers, T. H. van der Kwast, J. A. Grootegoed and E. Mulder (1992). "Hormone-induced dissociation of the androgen receptor-heat-shock protein complex: use of a new monoclonal antibody to distinguish transformed from nontransformed receptors." Biochemistry **31**(32): 7422-30.
- Venter, J. C., M. D. Adams, E. W. Myers, P. W. Li, R. J. Mural, G. G. Sutton, H. O. Smith, M. Yandell, C. A. Evans, R. A. Holt, J. D. Gocayne, P. Amanatides, R. M. Ballew, D. H. Huson, J. R. Wortman, Q. Zhang, C. D. Kodira, X. H. Zheng, L. Chen, M. Skupski, G. Subramanian, P. D. Thomas, J. Zhang, G. L. Gabor Miklos, C. Nelson, S. Broder, A. G. Clark, J. Nadeau, V. A. McKusick, N. Zinder, A. J. Levine, R. J. Roberts, M. Simon, C. Slayman, M. Hunkapiller, R. Bolanos, A. Delcher, I. Dew, D. Fasulo, M. Flanigan, L. Florea, A. Halpern, S. Hannenhalli, S. Kravitz, S. Levy, C. Mobarry, K. Reinert, K. Remington, J. Abu-Threideh, E. Beasley, K. Biddick, V. Bonazzi, R. Brandon, M. Cargill, I. Chandramouliswaran, R. Charlab, K. Chaturvedi, Z. Deng, V. Di Francesco, P. Dunn, K. Eilbeck, C. Evangelista, A. E. Gabrielian, W. Gan, W. Ge, F. Gong, Z. Gu, P. Guan, T. J. Heiman, M. E. Higgins, R. R. Ji, Z. Ke, K. A. Ketchum, Z. Lai, Y. Lei, Z. Li, J. Li, Y. Liang, X. Lin, F. Lu, G. V. Merkulov, N. Milshina, H. M. Moore, A. K. Naik, V. A. Narayan, B. Neelam, D. Nusskern, D. B. Rusch, S. Salzberg, W. Shao, B. Shue, J. Sun, Z. Wang, A. Wang, X. Wang, J. Wang, M. Wei, R. Wides, C. Xiao, C. Yan, A. Yao, J. Ye, M. Zhan, W. Zhang, H. Zhang, Q. Zhao, L. Zheng, F. Zhong, W. Zhong, S. Zhu, S. Zhao, D. Gilbert, S. Baumhueter, G. Spier, C. Carter, A. Cravchik, T. Woodage, F. Ali, H. An, A. Awe, D. Baldwin, H. Baden, M. Barnstead, I. Barrow, K. Beeson, D. Busam, A. Carver, A. Center, M. L. Cheng, L. Curry, S. Danaher, L. Davenport, R. Desilets, S. Dietz, K. Dodson, L. Doup, S. Ferriera, N. Garg, A. Gluecksmann, B. Hart, J. Haynes, C. Haynes, C. Heiner, S. Hladun, D. Hostin, J. Houck, T. Howland, C. Ibegwam, J. Johnson, F. Kalush, L. Kline, S. Koduru, A. Love, F. Mann, D. May, S. McCawley, T. McIntosh, I. McMullen, M. Moy, L. Moy, B. Murphy, K. Nelson, C. Pfannkoch, E. Pratts, V. Puri, H. Qureshi, M. Reardon, R. Rodriguez, Y. H. Rogers, D. Romblad, B. Ruhfel, R. Scott, C. Sitter, M. Smallwood, E. Stewart, R. Strong, E. Suh, R. Thomas, N. N. Tint, S. Tse, C. Vech, G. Wang, J. Wetter, S. Williams, M. Williams, S. Windsor, E. Winn-Deen, K. Wolfe, J. Zaveri, K. Zaveri, J. F. Abril, R. Guigo, M. J. Campbell, K. V. Sjolander, B. Karlak, A. Kejariwal, H. Mi, B. Lazareva, T. Hatton, A. Narechania, K. Diemer, A. Muruganujan, N. Guo, S. Sato, V. Bafna, S. Istrail, R. Lippert, R. Schwartz, B. Walenz, S. Yooseph, D. Allen, A. Basu, J. Baxendale, L. Blick, M. Caminha, J. Carnes-Stine, P. Caulk, Y. H. Chiang, M. Coyne, C. Dahlke, A. Mays, M. Dombroski, M. Donnelly, D. Ely, S. Esparham, C. Fosler, H. Gire, S. Glanowski, K. Glasser, A. Glodek, M. Gorokhov, K. Graham, B. Gropman, M. Harris, J. Heil, S. Henderson, J. Hoover, D. Jennings, C. Jordan, J. Jordan, J. Kasha, L. Kagan, C. Kraft, A. Levitsky, M. Lewis, X. Liu, J. Lopez, D. Ma, W. Majoros, J. McDaniel, S. Murphy, M. Newman, T. Nguyen, N. Nguyen, M. Nodell, S. Pan, J. Peck, M. Peterson, W. Rowe, R. Sanders, J. Scott, M. Simpson, T. Smith, A. Sprague, T. Stockwell, R. Turner, E. Venter, M. Wang, M. Wen, D. Wu, M. Wu, A. Xia, A. Zandieh and X. Zhu (2001). "The sequence of the human genome." Science **291**(5507): 1304-51.
- Viguier-Martinez, M. C., M. T. Hochereau de Reviers, B. Barenton and C. Perreau (1983). "Endocrinological and histological changes induced by flutamide treatment on the hypothalamo-hypophyseal testicular axis of the adult male rat and their incidences on fertility." Acta Endocrinol (Copenh) **104**(2): 246-52.
- Vogl, A. W., D. C. Pfeiffer, D. Mulholland, G. Kimel and J. Guttman (2000). "Unique and multifunctional adhesion junctions in the testis: ectoplasmic specializations." Arch Histol Cytol **63**(1): 1-15.
- vom Saal, F. S. and C. Hughes (2005). "An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment." Environ Health Perspect **113**(8): 926-33.

- Vos, J. G., E. Dybing, H. A. Greim, O. Ladefoged, C. Lambre, J. V. Tarazona, I. Brandt and A. D. Vethaak (2000). "Health effects of endocrine-disrupting chemicals on wildlife, with special reference to the European situation." Crit Rev Toxicol **30**(1): 71-133.
- Walker, W. H. and J. Cheng (2005). "FSH and testosterone signaling in Sertoli cells." Reproduction **130**(1): 15-28.
- Waller, D. P., A. Martin, B. H. Vickery and L. J. Zaneveld (1990). "The effect of ketoconazole on fertility of male rats." Contraception **41**(4): 411-7.
- Wang, G. and M. P. Hardy (2004). "Development of leydig cells in the insulin-like growth factor-I (igf-I) knockout mouse: effects of igf-I replacement and gonadotropic stimulation." Biol Reprod **70**(3): 632-9.
- Wang, Y., C. Barbacioru, F. Hyland, W. Xiao, K. L. Hunkapiller, J. Blake, F. Chan, C. Gonzalez, L. Zhang and R. R. Samaha (2006). "Large scale real-time PCR validation on gene expression measurements from two commercial long-oligonucleotide microarrays." BMC Genomics **7**: 59.
- Waters, M. D. and J. M. Fostel (2004). "Toxicogenomics and systems toxicology: aims and prospects." Nat Rev Genet **5**(12): 936-48.
- Weiss, J., L. Axelrod, R. W. Whitcomb, P. E. Harris, W. F. Crowley and J. L. Jameson (1992). "Hypogonadism caused by a single amino acid substitution in the beta subunit of luteinizing hormone." N Engl J Med **326**(3): 179-83.
- Welt, C., Y. Sidis, H. Keutmann and A. Schneyer (2002). "Activins, inhibins, and follistatins: from endocrinology to signaling. A paradigm for the new millennium." Exp Biol Med (Maywood) **227**(9): 724-52.
- West, A. P., R. M. Sharpe and P. T. Saunders (1994). "Differential regulation of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate (cAMP) response element-binding protein and cAMP response element modulator messenger ribonucleic acid transcripts by follicle-stimulating hormone and androgen in the adult rat testis." Biol Reprod **50**(4): 869-81.
- Wetmore, B. A. and B. A. Merrick (2004). "Toxicoproteomics: proteomics applied to toxicology and pathology." Toxicol Pathol **32**(6): 619-42.
- WHO. (2002). "Global assessment of the state-of-science of endocrine disruptors." http://www.who.int/ipcs/publications/new_issues/endocrine_disruptors/en/.
- Wichmann, M. W., M. K. Angele, A. Ayala, W. G. Cioffi and I. H. Chaudry (1997). "Flutamide: a novel agent for restoring the depressed cell-mediated immunity following soft-tissue trauma and hemorrhagic shock." Shock **8**(4): 242-8.
- Wichmann, M. W., R. Zellweger, C. M. DeMaso, A. Ayala and I. H. Chaudry (1996). "Mechanism of immunosuppression in males following trauma-hemorrhage. Critical role of testosterone." Arch Surg **131**(11): 1186-91; discussion 1191-2.
- Wilson, J. D., J. E. Griffin and D. W. Russell (1993). "Steroid 5 alpha-reductase 2 deficiency." Endocr Rev **14**(5): 577-93.
- Wilson, V. S. and G. A. LeBlanc (2000). "The contribution of hepatic inactivation of testosterone to the lowering of serum testosterone levels by ketoconazole." Toxicol Sci **54**(1): 128-37.

- Witzmann, F. A., A. Bobb, G. B. Briggs, H. N. Coppage, R. A. Hess, J. Li, N. M. Pedrick, G. D. Ritchie, J. R. Iii and K. R. Still (2003). "Analysis of rat testicular protein expression following 91-day exposure to JP-8 jet fuel vapor." Proteomics **3**(6): 1016-27.
- Wong, C., W. R. Kelce, M. Sar and E. M. Wilson (1995). "Androgen receptor antagonist versus agonist activities of the fungicide vinclozolin relative to hydroxyflutamide." J Biol Chem **270**(34): 19998-20003.
- Wong, C. H., W. Xia, N. P. Lee, D. D. Mruk, W. M. Lee and C. Y. Cheng (2005). "Regulation of ectoplasmic specialization dynamics in the seminiferous epithelium by focal adhesion-associated proteins in testosterone-suppressed rat testes." Endocrinology **146**(3): 1192-204.
- Wong, M. L. and J. F. Medrano (2005). "Real-time PCR for mRNA quantitation." Biotechniques **39**(1): 75-85.
- Wu, F. C., D. C. Irby, I. J. Clarke, J. T. Cummins and D. M. de Kretser (1987). "Effects of gonadotropin-releasing hormone pulse-frequency modulation on luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and testosterone secretion in hypothalamo/pituitary-disconnected rams." Biol Reprod **37**(3): 501-10.
- Yamamoto, T., T. Fukushima, R. Kikkawa, H. Yamada and I. Horii (2005). "Protein expression analysis of rat testes induced testicular toxicity with several reproductive toxicants." J Toxicol Sci **30**(2): 111-26.
- Yates, J. R., 3rd (2004). "Mass spectral analysis in proteomics." Annu Rev Biophys Biomol Struct **33**: 297-316.
- Yeh, S., M. Y. Tsai, Q. Xu, X. M. Mu, H. Lardy, K. E. Huang, H. Lin, S. D. Yeh, S. Altuwaijri, X. Zhou, L. Xing, B. F. Boyce, M. C. Hung, S. Zhang, L. Gan and C. Chang (2002). "Generation and characterization of androgen receptor knockout (ARKO) mice: an in vivo model for the study of androgen functions in selective tissues." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(21): 13498-503.
- Yoshida, T., S. O. Ioshii, K. Imanaka-Yoshida and K. Izutsu (1994). "Association of cytoplasmic dynein with manchette microtubules and spermatid nuclear envelope during spermiogenesis in rats." J Cell Sci **107** (Pt 3): 625-33.
- You, L., K. A. Breneman and H. Heck (1999). "In utero exposure to antiandrogens alters the responsiveness of the prostate to p,p'-DDE in adult rats and may induce prostatic inflammation." Toxicol Appl Pharmacol **161**(3): 258-66.
- You, L., M. Casanova, S. Archibeque-Engle, M. Sar, L. Q. Fan and H. A. Heck (1998). "Impaired male sexual development in perinatal Sprague-Dawley and Long-Evans hooded rats exposed in utero and lactationally to p,p'-DDE." Toxicol Sci **45**(2): 162-73.
- You, L. and M. Sar (1998). "Androgen receptor expression in the testes and epididymides of prenatal and postnatal Sprague-Dawley rats." Endocrine **9**(3): 253-61.
- Youngblood, G. L. and A. H. Payne (1992). "Isolation and characterization of the mouse P450 17 alpha-hydroxylase/C17-20-lyase gene (Cyp17): transcriptional regulation of the gene by cyclic adenosine 3',5'-monophosphate in MA-10 Leydig cells." Mol Endocrinol **6**(6): 927-34.

- Zhou, Q., J. E. Shima, R. Nie, P. J. Friel and M. D. Griswold (2005). "Androgen-regulated transcripts in the neonatal mouse testis as determined through microarray analysis." Biol Reprod **72**(4): 1010-9.
- Zhou, Z. X., M. V. Lane, J. A. Kemppainen, F. S. French and E. M. Wilson (1995). "Specificity of ligand-dependent androgen receptor stabilization: receptor domain interactions influence ligand dissociation and receptor stability." Mol Endocrinol **9**(2): 208-18.
- Zhou, Z. X., M. Sar, J. A. Simental, M. V. Lane and E. M. Wilson (1994). "A ligand-dependent bipartite nuclear targeting signal in the human androgen receptor. Requirement for the DNA-binding domain and modulation by NH₂-terminal and carboxyl-terminal sequences." J Biol Chem **269**(18): 13115-23.
- Zoeller, R. T. (2005). "Environmental chemicals as thyroid hormone analogues: new studies indicate that thyroid hormone receptors are targets of industrial chemicals?" Mol Cell Endocrinol **242**(1-2): 10-5.

RESUME

Depuis plusieurs années, des agents exogènes environnementaux, appelés perturbateurs endocriniens, sont soupçonnés d'interférer avec les fonctions essentielles de reproduction et de développement chez des nombreux organismes vivants. La caractérisation des effets toxiques de tels composés s'effectuent classiquement par l'évaluation de paramètres conventionnels dans le cadre d'études de toxicologie. Nous avons tenté d'évaluer le mécanisme d'action, au niveau moléculaire, par lequel un antiandrogène modèle, le flutamide, induit des effets toxiques sur l'appareil reproducteur mâle chez le rat, en nous aidant à la fois des techniques conventionnelles de toxicologie et des nouveaux outils «-omiques » développés au cours de ce travail. Nous avons pu apprécier la valeur ajoutée apportée par ces approches transcriptomique et protéomique appliquées aux études conventionnelles de toxicologie.

TITLE

Testicular effects of a model antiandrogen, flutamide, in male rat. Transcriptomics and proteomics approaches

ABSTRACT

For several years, certain environmental chemicals known as endocrine disruptors have been suspected to modulate essential functions like reproduction and development in intact organisms. In conventional toxicology studies the characterization of the adverse effects of such compounds usually relies on classical measurements. Using conventional parameters and new “-omics” tools developed in this work, we tried to evaluate the mechanism of action, at the molecular level, of an antiandrogen model compound, flutamide, known to affect the male rat reproductive tract. We have been able to show the added value of using transcriptomic and proteomic approaches in conventional toxicology studies.

DISCIPLINE

Santé

MOTS-CLES

Perturbateur Endocrinien - Antiandrogènes - Testicule de Rat - Toxico-transcriptomique - Toxico-protéomique

Endocrine Disruptor - Antiandrogen - Rat Testis - Toxico-proteomics - Toxico-transcriptomics

INTITULE ET ADRESSE DU LABORATOIRE :

Unité Inserm 407
Communication cellulaire en biologie
de la reproduction
Faculté de Médecine, Lyon-Sud
69921 OULLINS

THESE PREPAREE AU SEIN DU

Département Recherche
Bayer CropScience
355 rue Dostoïevski
06903 SOPHIA ANTIPOLIS

THESE

présentée

devant l'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

pour l'obtention

du DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

présentée et soutenue publiquement par

Claire FRIRY-SANTINI

le 13 Juillet 2007

Évaluation des effets du flutamide, molécule antiandrogénique, sur l'appareil reproducteur mâle chez le Rat

Approches protéomique et transcriptomique

ANNEXES

Membres du Jury:

Pr. Jean ANDRE
Pr. Patrick FENICHEL
Dr. Hervé COFFIGNY
Dr. Serge CARREAU
Dr. Rémi BARS
Dr. Michel SAMSON
Dr. Mohamed BENAHMED

Président
Rapporteur
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directeur de thèse

ANNEXES

1. Table a : Protéines statistiquement modulées à 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement au FM

1.1 Liste des protéines modulées à 6 mg/kg/j

SSP	Control	Ratio	Treated_6	Ratio
8	185,3	1	120,2	0,65
126	72	1	10,2	0,14
1043	103,7	1	41,8	0,4
1305	1889	1	1408	0,75
1826	1091,5	1	526,6	0,48
2106	73,9	1	98,7	1,34
2109	39,9	1	66,4	1,66
2127	23,6	1	49,6	2,1
2204	60,6	1	96,9	1,6
2221	39,3	1	63,7	1,62
2503	49,2	1	89,9	1,82
3012	28,5	1	13,7	0,48
3017	29,9	1	44,8	1,49
3106	264,1	1	333,1	1,26
3302	89,9	1	130,9	1,46
3327	64,7	1	95,4	1,47
3506	1478,7	1	1860,8	1,26
3617	346,9	1	194,3	0,56
3619	664,2	1	244,9	0,37
3626	436,2	1	203	0,47
3632	96,8	1	118,5	1,22
3854	106,9	1	187	1,75
4003	62,5	1	106,6	1,71
4004	39,7	1	55,8	1,4
4102	798,2	1	590,9	0,74
4222	85,3	1	140	1,64
4301	38,2	1	90,4	2,37
4329	108,2	1	258	2,38
4413	436,3	1	263,2	0,6
5110	208,1	1	257,2	1,24
5718	39,2	1	52,6	1,34
5808	125,9	1	238,8	1,9
6105	245,1	1	342,4	1,4
6805	25,9	1	66,3	2,56
7106	61,2	1	95,3	1,56
7207	149,7	1	356,4	2,38
8221	42,4	1	81,3	1,92
8335		1	43,2	33,05
8433	254,3	1	167,6	0,66

1.2 Liste des protéines modulées à 30 mg/kg/j

SSP	Control	Ratio	Treated_30	Ratio
1008	197,3	1	91,9	0,47
1210	25,2	1	47,5	1,88
1512	55,7	1	27,3	0,49
2406	33,3	1	82,5	2,48
2407	162,5	1	259,5	1,6
2419	191,6	1	363,6	1,9
3236		1	34,1	41
3712	73,4	1	31,8	0,43
4022	63,6	1	112,2	1,76
4031	11,4	1	26,4	2,31
4114	66,7	1	115,4	1,73
4126	23,1	1	42,3	1,83
4206	23,3	1		0,04

SSP	Control	Ratio	Treated_30	Ratio
4225	23,2	1	38,4	1,65
4238	90,5	1		0,01
4317	59,6	1	122,3	2,05
4322	82,9	1	141,6	1,71
4404	19,2	1	82,4	4,29
4428	353,5	1	95,6	0,27
4627	644,8	1	1156,1	1,79
5032	227,3	1	760	3,34
5113	908,7	1	1284,9	1,41
5310	72,5	1	111,9	1,54
5317	52,5	1	167,7	3,19
5420	86,9	1	131,8	1,52
5422	165,1	1	335,3	2,03
5517	124,4	1	197,8	1,59
5613	60	1	98	1,63
5624	54,5	1	153,6	2,82
5626	27,4	1	57,9	2,11
5636	95	1	284,1	2,99
5713	12,5	1	32,4	2,59
5718	36,9	1	71,8	1,95
5816	536	1	784,3	1,46
6139	18,8	1	34,9	1,85
6214	13,9	1	45,1	3,25
6215	137,3	1	197,7	1,44
6322	31,8	1	169,3	5,32
6348	24,5	1	60	2,45
6401	529,3	1	1555,5	2,94
6417	1343,2	1	2991,4	2,23
6427	189,7	1	307,1	1,62
6544	880,5	1	1977,5	2,25
6604	116,1	1	145,7	1,25
6607	39	1	61,8	1,58
6704	154,3	1	263,1	1,7
6731	12,2	1	21,8	1,78
7013	20,4	1	33,7	1,65
7109	18,1	1	25,7	1,42
7123	16,7	1	39,3	2,35
7128	1727,3	1	2439,4	1,41
7202	34,7	1	66	1,91
7203	168,4	1	443,8	2,64
7214	81,5	1	158,4	1,94
7239	51,2	1	158,9	3,1
7403	221,2	1	358,2	1,62
7405	52,4	1	77,5	1,48
7414	157,7	1	282,1	1,79
7531	108,1	1	330	3,05
7727		1	24	28,87
8015	623,3	1	1419,3	2,28
8135	171	1	347	2,03
8201	28,2	1	40	1,42
8214	110,5	1	222	2,01
8217	68,4	1	19,3	0,28
8219	131,2	1	206,9	1,58
8240	17,4	1	39,7	2,28
8327		1	53,7	64,44
8440	74,3	1	120,5	1,62
8702	78,2	1	117	1,5
8711	29,3	1	53,9	1,84

1.3 Liste des protéines modulées à 150 mg/kg/j

SSP	Control	Ratio	Treated_150	Ratio
419	274,6	1	115,2	0,42
430	810,2	1	415,2	0,51
1106	123,8	1	198,6	1,6
1110	39,7	1	58,8	1,48
1117	134,3	1	61,5	0,46
1303	895	1	347,7	0,39
1410	47,7	1	14,9	0,31
1426	39,6	1	76,1	1,92
1526	30,5	1	89,7	2,94
1609	25,8	1	8,8	0,34
1638		1	111,3	136,86
1813	31,1	1	76,1	2,45
1834	666,7	1	223,6	0,34
2124	12,1	1	80,8	6,67

SSP	Control	Ratio	Treated_150	Ratio
2411	210,7	1	774,8	3,68
2418	3802,8	1	7554,6	1,99
2425	1595,6	1	4653,3	2,92
2433	74,8	1	185,8	2,48
2616	207,9	1	305,8	1,47
2632	308	1	223,8	0,73
3027	21,9	1	60,4	2,76
3036		1	44,2	54,31
3044	5,3	1	22,7	4,25
3105	160,9	1	234,1	1,46
3112	280,5	1	379,8	1,35
3114	962,6	1	382,6	0,4
3148	24,8	1	56,6	2,28
3429	54,1	1	220,7	4,08
3505	1376,7	1	2011,5	1,46
3610	17,2	1	29,2	1,7
4006	581,3	1	944,2	1,62
4015	20,2	1	66,1	3,28
4036	11	1	34,4	3,12
4040	26,9	1	46	1,71
4044	15,9	1	22,3	1,4
4112	16,4	1	28,2	1,72
4125	32,3	1	96,2	2,98
4127		1	38,5	47,38
4128		1	32,1	39,43
4132		1	31,6	38,83
4309	37,5	1	91,8	2,45
4323	79,1	1	174,6	2,21
4332	68,6	1	31,3	0,46
4404	174,7	1	255,9	1,46
4418	76,8	1	285,7	3,72
4427	88,6	1	63,3	0,71
4531	173,6	1	314,8	1,81
4604	162	1	528,9	3,27
4829	17,1	1	24,2	1,41
5004	150,3	1	76,4	0,51
5016	154,4	1	648,1	4,2
5030	11,9	1	29,5	2,48
5112	34,3	1	54,2	1,58
5119	740,5	1	1089,6	1,47
5126	19,1	1	101,8	5,33
5127		1	34,3	42,18
5229	266,8	1	111,5	0,42
5307	339,4	1	127	0,37
5312	308,4	1	708,4	2,3
5402	132,1	1	74	0,56
5407	40639	1	60563,4	1,49
5409	81,8	1	55,5	0,68
5511	56,9	1	77	1,35
5516	128,1	1	221,5	1,73
5633	22,9	1	36	1,58
5835		1	20,4	25,1
6019	28,4	1	92,2	3,25
6106	24,2	1	144,5	5,97
6125	24,1	1	11,2	0,47
6142	43,9	1	220,4	5,02
6241		1	265,8	326,79
6315	115	1	332,8	2,9
6320	54,4	1	79,4	1,46
6330	77,8	1	126,5	1,63
6403	348	1	196	0,56
6516	102,9	1	177,1	1,72
6605	50,5	1	92,4	1,83
6611	4,3	1	14	3,25
6708	205,5	1	389,1	1,89
6732	30	1	38,7	1,29
7023	1754,3	1	2409,3	1,37
7032	15,3	1	21,7	1,42
7104	143	1	183,5	1,28
7210	172,8	1	565,9	3,27
7221	96,4	1	169	1,75
7228	51,4	1	151,5	2,95
7230	436,4	1	910,8	2,09
7307	1233,6	1	2017,5	1,64
7338	29,7	1	177,7	5,98
7402	807,2	1	1501	1,86
7433	130	1	311,1	2,39
7452		1	73,9	90,86
7525	115,8	1	51	0,44
7613	48	1	140	2,92
7625	644	1	1295,7	2,01
7707	19,6	1	28,5	1,46
7808	26,2	1	38,3	1,46

SSP	Control	Ratio	Treated_150	Ratio
7815	12,4	1	19,6	1,58
8012	245,6	1	138,2	0,56
8127	28,7	1	35,1	1,22
8131	218,9	1	657,4	3
8133	230,4	1	1455,1	6,32
8138	40,5	1	64	1,58
8142	42,4	1	90,9	2,14
8143	59,3	1	87,7	1,48
8212	135,9	1	260,5	1,92
8214	81,3	1	60,6	0,74
8319	49,7	1	97,6	1,96
8326		1	105,3	129,44
8636	189,1	1	346,8	1,83
8818	73,9	1	191,9	2,6
8840	12,9	1	27,1	2,11
9101	26,6	1	35,8	1,35
9209		1	35,3	43,41

2. Table b : Transcrits modulés à 6, 30 et 150 mg/kg de FM par jour, après 28 jours de traitement au FM

2.1 Liste des transcrits sur-accumulés à 6 mg/kg/j

GeneName	SystematicName	Description	Ratio 6	Ratio 30	Ratio 150
A_44_P445806	A_44_P445806	Unknown	1,32	1,01	1,13
A_44_P466474	A_44_P466474	Unknown	1,23	1,49	2,71
A_44_P606523	A_44_P606523	Unknown	1,34	1,17	1,53
A_44_P882860	A_44_P882860	Unknown	1,76	1,03	1,18
A_44_P890506	A_44_P890506	Unknown	1,28	1,06	1,39
AA899661	AA899661	AA899661 UI-R-E0-cy-a-08-0-UI.s1 UI-R-E0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E0-cy-a-08-0-UI 3', mRNA sequence [AA899661]	1,29	1,42	1,07
AA963075	AA963075	AA963075 UI-R-E1-fx-a-09-0-UI.s1 UI-R-E1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E1-fx-a-09-0-UI 3', mRNA sequence [AA963075]	2,67	2,76	1,23
Acaa2	NM_130433	Rattus norvegicus acetyl-Coenzyme A acyltransferase 2 (mitochondrial 3-oxoacyl-Coenzyme A thiolase) (Acaa2), mRNA [NM_130433]	1,25	1,73	2,11
Acaa2	NM_130433	Rattus norvegicus acetyl-Coenzyme A acyltransferase 2 (mitochondrial 3-oxoacyl-Coenzyme A thiolase) (Acaa2), mRNA [NM_130433]	1,33	1,68	1,81
AI059864	AI059864	AI059864 UI-R-C1-la-a-08-0-UI.s1 UI-R-C1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C1-la-a-08-0-UI 3', mRNA sequence [AI059864]	1,25	1,09	1,22
AI548201	AI548201	AI548201 UI-R-C3-su-f-02-0-UI.s1 UI-R-C3 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C3-su-f-02-0-UI 3', mRNA sequence [AI548201]	1,26	1,60	1,01
Akr1b8	NM_173136	Rattus norvegicus aldo-keto reductase family 1, member B8 (Akr1b8), mRNA [NM_173136]	1,52	1,46	4,19
Aldh7a1_predicted	XM_214535	PREDICTED: Rattus norvegicus aldehyde dehydrogenase family 7, member A1 (predicted) (Aldh7a1_predicted), mRNA [XM_214535]	1,22	1,30	1,51
Ass	NM_013157	Rattus norvegicus arginosuccinate synthetase (Ass), mRNA [NM_013157]	1,41	1,86	2,12
Atp2b3	XM_343839	PREDICTED: Rattus norvegicus ATPase, Ca++ transporting, plasma membrane 3 (Atp2b3), mRNA [XM_343839]	1,64	1,92	3,71
AW143635	AW143635	AW143635 EST293931 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBX05 5' end, mRNA sequence [AW143635]	1,22	1,10	1,03
AW144075	AW144075	AW144075 EST294371 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICG82 5' end, mRNA sequence [AW144075]	1,28	1,17	1,30
AW915764	AW915764	AW915764 EST347068 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIDA44 5' end, mRNA sequence [AW915764]	1,30	1,51	1,76
Bbs1_predicted	XM_219691	Rattus norvegicus similar to Bardet-Biedl syndrome 1 (LOC309156), mRNA [XM_219691]	1,33	1,34	1,19
BC090353	BC090353	Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7313591. [BC090353]	1,28	1,29	1,36
BF289650	BF289650	BF289650 EST454241 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIHJ43, mRNA sequence [BF289650]	1,39	1,54	3,15
BF557949	BF557949	BF557949 UI-R-C0-hg-a-04-0-UI.r1 UI-R-C0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C0-hg-a-04-0-UI 5', mRNA sequence [BF557949]	1,37	1,53	2,81
BG665267	BG665267	BG665267 DRACAF08 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRACAF08 5', mRNA sequence [BG665267]	1,27	0,85	0,90
BM391518	BM391518	BM391518 UI-R-DY0-ckr-g-20-0-UI.s1 NCI_CGAP_DY0 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7327246 3', mRNA sequence [BM391518]	1,21	1,65	1,32
CA339611	CA339611	NISC_ly04h05.y1 NCI_CGAP_Pr32 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:5622393 5', mRNA sequence [CA339611]	1,25	1,47	0,98
Car11	AY075025	Rattus norvegicus carbonic anhydrase-related XI protein mRNA, complete cds. [AY075025]	1,32	1,17	1,49
Cd36	NM_031561	Rattus norvegicus cd36 antigen (Cd36), mRNA [NM_031561]	1,22	1,96	2,70
Cd47	NM_019195	Rattus norvegicus CD47 antigen (Rh-related antigen, integrin-associated signal transducer) (Cd47), mRNA [NM_019195]	1,21	1,13	1,51
Cpt1a	NM_031559	Rattus norvegicus carnitine palmitoyltransferase 1, liver (Cpt1a), mRNA [NM_031559]	1,24	0,82	1,57
Crot	NM_031987	Rattus norvegicus carnitine O-octanoyltransferase (Crot), mRNA [NM_031987]	1,71	2,15	2,15
Ctsd	NM_134334	Rattus norvegicus cathepsin D (Ctsd), mRNA [NM_134334]	1,20	1,39	2,07
Ctsh	NM_012939	Rattus norvegicus cathepsin H (Ctsh), mRNA [NM_012939]	1,65	2,05	2,11
Cyp11a1	NM_017286	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 11, subfamily a, polypeptide 1 (Cyp11a1), mRNA [NM_017286]	2,39	3,30	3,60
Cyp17a1	NM_012753	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 17, subfamily a, polypeptide 1 (Cyp17a1), mRNA [NM_012753]	2,48	3,93	8,18
Cyp1b1	NM_012940	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 1, subfamily b, polypeptide 1 (Cyp1b1), mRNA [NM_012940]	1,54	1,86	2,89
Ddc	NM_012545	Rattus norvegicus dopa decarboxylase (Ddc), mRNA [NM_012545]	1,27	1,67	1,73
Decr1	NM_057197	Rattus norvegicus 2,4-dienoyl CoA reductase 1, mitochondrial (Decr1), mRNA [NM_057197]	1,35	1,50	2,19
Dhrs4	NM_153315	Rattus norvegicus dehydrogenase/reductase (SDR family) member 4 (Dhrs4), mRNA [NM_153315]	1,72	1,61	1,24
Dp1_predicted	XM_344661	PREDICTED: Rattus norvegicus deleted in polyposis 1 (predicted) (Dp1_predicted), mRNA [XM_344661]	1,40	1,62	1,87
Dpt_predicted	XM_213925	PREDICTED: Rattus norvegicus dermatopontin (predicted) (Dpt_predicted), mRNA [XM_213925]	1,79	1,84	2,91
Dufd1_predicted	XM_218781	PREDICTED: Rattus norvegicus DUF729 domain containing 1 (predicted) (Dufd1_predicted), mRNA [XM_218781]	1,25	1,19	1,14
Ebp	NM_057137	Rattus norvegicus phenylalkylamine Ca2+ antagonist (emopamil) binding protein (Ebp), mRNA [NM_057137]	1,24	2,08	2,30
Echs1	NM_078623	Rattus norvegicus enoyl Coenzyme A hydratase, short chain, 1, mitochondrial (Echs1), mRNA [NM_078623]	1,33	1,51	2,24
ENSRNOT0000031061	ENSRNOT0000031061	Unknown	1,39	0,96	1,06
Fads1	NM_053445	Rattus norvegicus fatty acid desaturase 1 (Fads1), mRNA [NM_053445]	1,35	1,35	1,85
Fxyd5	NM_021909	Rattus norvegicus FXYP domain-containing ion transport regulator 5 (Fxyd5), mRNA [NM_021909]	1,55	1,88	2,07
Grca_predicted	XM_342757	PREDICTED: Rattus norvegicus gene rich cluster, A gene (predicted) (Grca_predicted), mRNA [XM_342757]	1,23	0,98	1,04

Gsta5	NM_031509	Rattus norvegicus glutathione S-transferase A5 (Gsta5), mRNA [NM_031509]	1,28	1,64	2,36
Hao2	NM_032082	Rattus norvegicus hydroxyacid oxidase 2 (long chain) (Hao2), mRNA [NM_032082]	1,83	2,15	2,42
Herc1_predicted	XM_236362	PREDICTED: Rattus norvegicus hect (homologous to the E6-AP (UBE3A) carboxyl terminus) domain and RCC1 (CHC1)-like domain (RLD) 1 (predicted) (Herc1_predicted), mRNA [XM_236362]	1,29	1,19	0,98
Hmgcs2	NM_173094	Rattus norvegicus 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2 (Hmgcs2), mRNA [NM_173094]	1,22	1,38	1,85
Hp	NM_012582	Rattus norvegicus haptoglobin (Hp), mRNA [NM_012582]	2,12	2,60	2,98
Hpgd	NM_024390	Rattus norvegicus 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (Hpgd), mRNA [NM_024390]	1,32	1,50	1,83
Hrasls3	NM_017060	Rattus norvegicus HRAS like suppressor (Hrasls3), mRNA [NM_017060]	1,37	1,81	2,45
Hrasls3	NM_017060	Rattus norvegicus HRAS like suppressor (Hrasls3), mRNA [NM_017060]	1,42	1,75	2,44
Hsd11b1	NM_017080	Rattus norvegicus hydroxysteroid 11-beta dehydrogenase 1 (Hsd11b1), mRNA [NM_017080]	1,34	1,28	1,15
Hsd17b10	NM_031682	Rattus norvegicus hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 10 (Hsd17b10), mRNA [NM_031682]	1,21	1,72	2,32
Hsd3b1	NM_017265	Rattus norvegicus hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta- and steroid delta-isomerase 1 (Hsd3b1), mRNA [NM_017265]	2,06	4,27	7,09
Ifitm2	NM_030833	Rattus norvegicus interferon induced transmembrane protein 2 (1-8D) (Ifitm2), mRNA [NM_030833]	1,28	1,33	1,73
Igf1	NM_178866	Rattus norvegicus insulin-like growth factor 1 (Igf1), mRNA [NM_178866]	1,24	1,31	1,13
Igfbp2	NM_013122	Rattus norvegicus insulin-like growth factor binding protein 2 (Igfbp2), mRNA [NM_013122]	1,32	2,15	3,48
Igfbp4	NM_001004274	Rattus norvegicus insulin-like growth factor binding protein 4 (Igfbp4), mRNA [NM_001004274]	1,72	2,23	3,78
Kcnj3	NM_031610	Rattus norvegicus potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 3 (Kcnj3), mRNA [NM_031610]	1,24	1,39	1,04
Kremen	NM_053649	Rattus norvegicus kringle containing transmembrane protein (Kremen), mRNA [NM_053649]	2,80	6,61	5,84
LOC292393	XM_217990	Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC292393), mRNA [XM_217990]	1,24	1,04	0,80
LOC293745	XM_219592	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC293745), mRNA [XM_219592]	1,26	1,31	0,99
LOC293745	XM_219592	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC293745), mRNA [XM_219592]	1,39	1,43	1,07
LOC294067	XM_215278	Rattus norvegicus similar to pp21 homolog (LOC294067), mRNA [XM_215278]	1,78	2,44	2,98
LOC296256	XM_230713	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to serine/threonine kinase (LOC296256), mRNA [XM_230713]	1,22	1,11	0,61
LOC296402	XM_215954	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Docking protein 5 (Downstream of tyrosine kinase 5) (Protein dok-5) (LOC296402), mRNA [XM_215954]	1,29	1,39	0,73
LOC298595	XM_233601	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Peptidyl arginine deiminase, egg and embryo abundant (LOC298595), mRNA [XM_233601]	1,33	1,32	1,35
LOC302797	XM_229115	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60 kDa heat shock protein, mitochondrial precursor (Hsp60) (60 kDa chaperonin) (CPN60) (Heat shock protein 60) (HSP-60) (Mitochondrial matrix protein P1) (HSP-65) (LOC302797), mRNA [XM_229115]	1,30	1,62	2,83
LOC306294	XM_224652	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4930474N05 (LOC306294), mRNA [XM_224652]	1,23	0,97	0,72
LOC308950	XM_219278	Rattus norvegicus similar to 60 kDa heat shock protein, mitochondrial precursor (Hsp60) (60 kDa chaperonin) (CPN60) (Heat shock protein 60) (HSP-60) (Mitochondrial matrix protein P1) (HSP-65) (LOC308950), mRNA [XM_219278]	1,23	1,30	1,84
LOC310390	XM_227116	Rattus norvegicus similar to T-cell activation Rho GTPase-activating protein isoform b (LOC310390), mRNA [XM_227116]	1,39	1,04	1,11
LOC360478	XM_346881	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC360478 (LOC360478), mRNA [XM_346881]	1,30	1,35	1,97
LOC360990	XM_341264	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ubiquitin specific protease 34 (LOC360990), mRNA [XM_341264]	1,29	1,03	1,24
LOC362680	XM_347073	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC362680 (LOC362680), mRNA [XM_347073]	1,25	0,90	1,02
LOC363325	XM_347125	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC363325 (LOC363325), mRNA [XM_347125]	1,65	1,05	0,92
LOC366639	XM_345680	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Aldo-keto reductase family 1, member B8 (LOC366639), mRNA [XM_345680]	1,30	1,04	2,55
LOC368070	XM_347237	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to pinin (LOC368070), mRNA [XM_347237]	1,28	1,06	0,94
Lr8	NM_134390	Rattus norvegicus LR8 protein (Lr8), mRNA [NM_134390]	1,41	1,89	3,05
Mgst1	NM_134349	Rattus norvegicus microsomal glutathione S-transferase 1 (Mgst1), mRNA [NM_134349]	1,23	1,46	1,49
Ngfrap1	NM_053401	Rattus norvegicus nerve growth factor receptor (TNFRSF16) associated protein 1 (Ngfrap1), mRNA [NM_053401]	1,58	2,19	2,74
NM_001013071	NM_001013071	Rattus norvegicus transmembrane 7 superfamily member 2 (predicted) (Tm7sf2_predicted), mRNA [NM_001013071]	1,83	4,38	6,46
NM_001013889	NM_001013889	Rattus norvegicus carboxylesterase-like (LOC291863), mRNA [NM_001013889]	1,26	1,36	1,38
NM_001014125	NM_001014125	Rattus norvegicus protein disulfide isomerase-associated 5 (Pdia5), mRNA [NM_001014125]	1,26	1,43	1,14
NP798074	NP798074	major histocompatibility complex class I Eu-like protein [Rattus sp.] [NP798074]	1,28	0,85	1,65
Olr1572_predicted	XM_221921	PREDICTED: Rattus norvegicus olfactory receptor 1572 (predicted) (Olr1572_predicted), mRNA [XM_221921]	1,24	1,04	1,14
Osr2_predicted	NM_001012118	Rattus norvegicus odd-skipped related 2 (Drosophila) (predicted) (Osr2_predicted), mRNA [NM_001012118]	1,38	1,72	2,15
Pgrmc1	NM_021766	Rattus norvegicus progesterone receptor membrane component 1 (Pgrmc1), mRNA [NM_021766]	1,34	1,55	2,06
Prdx3	NM_022540	Rattus norvegicus peroxiredoxin 3 (Prdx3), mRNA [NM_022540]	1,53	2,23	2,64
Psd2_predicted	XM_226019	PREDICTED: Rattus norvegicus pleckstrin and Sec7 domain containing 2 (predicted) (Psd2_predicted), mRNA [XM_226019]	1,27	1,11	1,05
Psmb8	NM_080767	Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type 8 (Psmb8), mRNA [NM_080767]	1,42	1,44	1,70
Retsat	NM_145084	Rattus norvegicus all-trans-13,14-dihydroretinol saturase (Retsat), mRNA [NM_145084]	1,26	1,57	1,32
RGD:1303130	NM_001004226	Rattus norvegicus kidney predominant protein NCU-G1 (0610031j06rik), mRNA [NM_001004226]	1,46	1,59	2,11
RGD:708363	NM_173123	Rattus norvegicus cytochrome P450 4F4 (Cyp4f4), mRNA [NM_173123]	1,22	1,64	1,60
RGD1306164_predicted	XM_341390	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ90798 (predicted) (LOC361104), mRNA [XM_341390]	1,29	0,89	1,03
RGD1307838_predicted	XM_233629	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to KIAA1096 protein (predicted) (LOC298617), mRNA [XM_233629]	1,30	1,20	1,00
RGD1309765_predicted	XM_224848	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC290746), mRNA [XM_224848]	1,37	1,81	1,26

RGD1310127_predicted	XM_341935	Rattus norvegicus similar to cDNA sequence BC017158 (LOC361654), mRNA [XM_341935]	1,40	1,12	1,07
RGD1310648_predicted	XM_213659	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Fat cell-specific low molecular weight protein (Fat tissue-specific low MW protein) (predicted) (LOC288271), mRNA [XM_213659]	1,72	2,50	4,41
RGD1310725_predicted	XM_216137	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC297077 (predicted) (LOC297077), mRNA [XM_216137]	1,22	1,67	2,55
RGD1311340_predicted	XM_219672	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to chorein isoform B; chorein (predicted) (LOC309243), mRNA [XM_219672]	1,35	1,16	1,21
Rgnf_predicted	XM_342179	PREDICTED: Rattus norvegicus Rho-guanine nucleotide exchange factor (predicted) (Rgnf_predicted), mRNA [XM_342179]	1,40	1,46	1,01
Rhbg	NM_183054	Rattus norvegicus Rhesus blood group-associated B glycoprotein (Rhbg), mRNA [NM_183054]	1,23	1,69	1,54
RT1-Bb	NM_001004084	Rattus norvegicus RT1 class II, locus Bb (RT1-Bb), mRNA [NM_001004084]	1,32	0,69	2,43
RT1-CE1	NM_001008832	Rattus norvegicus RT1 class I, CE1 (RT1-CE1), mRNA [NM_001008832]	1,24	1,01	1,55
RT1-CE12	NM_001008835	Rattus norvegicus RT1 class I, CE12 (RT1-CE12), mRNA [NM_001008835]	1,25	1,06	1,56
RT1-M6-2	NM_001008853	Rattus norvegicus RT1 class I, M6, gene 2 (RT1-M6-2), mRNA [NM_001008853]	1,24	0,99	1,51
Sat	NM_001007667	Rattus norvegicus spermidine/spermine N1-acetyl transferase (Sat), mRNA [NM_001007667]	1,44	2,17	2,13
Scarb1	NM_031541	Rattus norvegicus scavenger receptor class B, member 1 (Scarb1), mRNA [NM_031541]	1,84	2,57	4,37
Sftpc	NM_017342	Rattus norvegicus surfactant associated protein C (Sftpc), mRNA [NM_017342]	1,27	1,47	1,50
Slc16a11_predicted	XM_213334	PREDICTED: Rattus norvegicus solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 11 (predicted) (Slc16a11_predicted), mRNA [XM_213334]	1,40	1,37	1,63
Slc1a3	NM_019225	Rattus norvegicus solute carrier family 1 (glial high affinity glutamate transporter), member 3 (Slc1a3), mRNA [NM_019225]	1,22	1,39	1,62
Slc27a3_predicted	XM_215605	PREDICTED: Rattus norvegicus solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 3 (predicted) (Slc27a3_predicted), mRNA [XM_215605]	1,26	1,55	1,86
Spp1	NM_012881	Rattus norvegicus secreted phosphoprotein 1 (Spp1), mRNA [NM_012881]	1,53	2,06	1,87
Stab2	AY007370	Rattus norvegicus hyaluronan receptor for endocytosis HARE precursor, mRNA, partial cds. [AY007370]	1,30	1,14	1,42
Star	NM_031558	Rattus norvegicus steroidogenic acute regulatory protein (Star), mRNA [NM_031558]	2,00	3,25	7,45
Sv2b	NM_057207	Rattus norvegicus synaptic vesicle glycoprotein 2b (Sv2b), mRNA [NM_057207]	2,96	3,25	1,33
TC520871	TC520871	Unknown	1,23	1,02	1,31
TC523866	TC523866	Q9JMF2 (Q9JMF2) Mus musculus (Fragment), partial (13%) [TC523866]	1,61	0,81	1,03
TC524696	TC524696	Q8G272 (Q8G272) Malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase, partial (7%) [TC524696]	1,47	1,57	1,71
TC524759	TC524759	Unknown	1,21	1,05	1,02
TC526771	TC526771	Unknown	1,49	1,44	1,39
TC532273	TC532273	Q14886 (Q14886) Mucin (Fragment), partial (10%) [TC532273]	1,60	1,78	1,11
TC532601	TC532601	Unknown	1,23	1,22	1,26
TC539827	TC539827	Unknown	1,22	1,10	1,27
TC542347	TC542347	Unknown	1,42	1,25	1,22
TC550054	TC550054	Unknown	1,22	1,32	1,10
TC552204	TC552204	Q918W2 (Q918W2) 25 kDa triple gene block protein, partial (7%) [TC552204]	1,24	0,80	0,77
TC552581	TC552581	Q8R1R5 (Q8R1R5) MIC2L1, partial (9%) [TC552581]	1,22	1,67	1,14
TC556692	TC556692	Unknown	1,23	1,46	1,95
TC559472	TC559472	Unknown	1,21	1,11	16,69
TC566074	TC566074	Unknown	1,23	1,68	1,12
TC567098	TC567098	Q8YRD7 (Q8YRD7) Two-component sensor histidine kinase, partial (3%) [TC567098]	1,28	1,44	1,31
Timp1	NM_053819	Rattus norvegicus tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (Timp1), mRNA [NM_053819]	1,42	1,84	5,76
Tkt	NM_022592	Rattus norvegicus transketolase (Tkt), mRNA [NM_022592]	1,38	1,46	2,82
XM_573954	XM_573954	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CG6004-PB (LOC498671), mRNA [XM_573954]	1,27	1,27	1,17
XM_574380	XM_574380	PREDICTED: Rattus norvegicus poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B) (predicted) (Pvrl2_predicted), mRNA [XM_574380]	1,29	1,05	0,97
XM_575783	XM_575783	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CG12279-PA (LOC500420), mRNA [XM_575783]	1,39	1,74	2,61
XM_576553	XM_576553	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC501133 (LOC501133), mRNA [XM_576553]	1,31	1,08	0,71
XM_576774	XM_576774	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical gene supported by BC082068 (LOC501361), mRNA [XM_576774]	1,30	1,07	0,81
XM_577713	XM_577713	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC502253), mRNA [XM_577713]	1,32	0,91	0,76
Yc2	NM_001009920	Rattus norvegicus glutathione S-transferase Yc2 subunit (Yc2), mRNA [NM_001009920]	1,42	1,68	2,13

2.2 Liste des transcrits sous-accumulés à 6 mg/kg/j

GeneName	SystematicName	Description	Ratio 6	Ratio 30	Ratio 150
Adam30_predicted	XM_227500	Rattus norvegicus similar to ADAM30 (LOC295309), mRNA [XM_227500]	0,83	0,80	0,95
AI071107	AI071107	AI071107 UI-R-C2-ms-e-11-0-UI.s1 UI-R-C2 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C2-ms-e-11-0-UI 3', mRNA sequence [AI071107]	0,59	0,70	0,92
AI104571	AI104571	AI104571 EST213860 Normalized rat heart, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RHECF39 3' end, mRNA sequence [AI104571]	0,78	0,93	0,72
AI180339	AI180339	AI180339 EST224083 Normalized rat spleen, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RSPCV03 3' end, mRNA sequence [AI180339]	0,78	0,79	0,90
AI234817	AI234817	AI234817 EST231379 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone ROVC113 3' end, mRNA sequence [AI234817]	0,57	0,58	0,78
AI638953	AI638953	AI638953 rx03249s Rat mixed-tissue library Rattus norvegicus cDNA clone rx03249 3', mRNA sequence [AI638953]	0,72	1,04	1,14
AW919694	AW919694	AW919694 EST350998 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIGF73 5' end, mRNA sequence [AW919694]	0,74	0,97	1,78
BF414002	BF414002	UI-R-BJ2-bol-c-08-0-UI.s1 UI-R-BJ2 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ2-bol-c-08-0-UI 3', mRNA sequence [BF414002]	0,77	1,11	0,60
BF542359	BF542359	BF542359 UI-R-C3-sf-g-04-0-UI.r1 UI-R-C3 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C3-sf-g-04-0-UI 5', mRNA sequence [BF542359]	0,60	0,80	1,14
BG665929	BG665929	BG665929 DRACKE03 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRACKE03 5', mRNA sequence [BG665929]	0,77	0,91	0,79
BI291392	BI291392	UI-R-CV2-cgp-e-12-0-UI.s1 UI-R-CV2 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CV2-cgp-e-12-0-UI 3', mRNA sequence [BI291392]	0,43	0,94	0,82
Cd52	NM_053983	Rattus norvegicus CD52 antigen (Cd52), mRNA [NM_053983]	0,61	0,56	0,60
Chd11_predicted	XM_227510	PREDICTED: Rattus norvegicus chromodomain helicase DNA binding protein 1-like (predicted) (Chd11_predicted), mRNA [XM_227510]	0,80	0,86	0,83
Chrb3	NM_133597	Rattus norvegicus cholinergic receptor, nicotinic, beta polypeptide 3 (Chrb3), mRNA [NM_133597]	0,67	0,87	0,72
Ctrb	NM_012536	Rattus norvegicus Chymotrypsinogen B (Ctrb), mRNA [NM_012536]	0,72	0,82	0,55
Dhx9_predicted	XM_239780	PREDICTED: Rattus norvegicus DEAH (Asp-Glu-Ala-His) box polypeptide 9 (predicted) (Dhx9_predicted), mRNA [XM_239780]	0,75	0,89	1,46
Ecm2_predicted	XM_214443	PREDICTED: Rattus norvegicus extracellular matrix protein 2, female organ and adipocyte specific (predicted) (Ecm2_predicted), mRNA [XM_214443]	0,68	0,57	0,42
Egln2	NM_001004083	Rattus norvegicus EGL nine homolog 2 (C. elegans) (Egln2), mRNA [NM_001004083]	0,67	0,78	0,70
Emd	NM_012948	Rattus norvegicus emerin (Emd), mRNA [NM_012948]	0,82	0,80	1,01
ENSRNOT00000039186	ENSRNOT00000039186	AI011063 EST205514 Normalized rat muscle, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RMUAX04 3' end, mRNA sequence [AI011063]	0,83	0,85	0,73
ENSRNOT00000040231	ENSRNOT00000040231	Unknown	0,66	0,64	0,87
Es2	NM_017004	Rattus norvegicus esterase 2 (Es2), mRNA [NM_017004]	0,57	0,49	0,75
Fabp9	NM_022854	Rattus norvegicus fatty acid binding protein 9, testis (Fabp9), mRNA [NM_022854]	0,76	0,77	0,62
Fuk_predicted	XM_226508	PREDICTED: Rattus norvegicus fucokinase (predicted) (Fuk_predicted), mRNA [XM_226508]	0,83	0,96	1,20
Igsf3_predicted	XM_227520	PREDICTED: Rattus norvegicus immunoglobulin superfamily, member 3 (predicted) (Igsf3_predicted), mRNA [XM_227520]	0,80	0,95	1,06
LOC294560	XM_215428	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to chromosome 10 open reading frame 42 (LOC294560), mRNA [XM_215428]	0,74	1,01	0,84
LOC309475	XM_220013	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to transmembrane protein TM9SF3 (LOC309475), mRNA [XM_220013]	0,72	1,03	1,29
LOC316318	XM_237047	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to TESP2 (LOC316318), mRNA [XM_237047]	0,70	0,75	0,78
LOC362795	XM_343121	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Ig gamma-3 chain C region, membrane-bound form - mouse (LOC362795), mRNA [XM_343121]	0,78	0,90	0,93
LOC363000	XM_343330	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 2610317D23Rik protein (LOC363000), mRNA [XM_343330]	0,82	0,86	1,04
LOC365577	XM_345107	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC365577), mRNA [XM_345107]	0,83	1,02	0,94
LOC365705	XM_345172	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to BC004022 protein (LOC365705), mRNA [XM_345172]	0,75	0,66	0,80
Mcsp	NM_031536	Rattus norvegicus mitochondrial capsule selenoprotein (Mcsp), mRNA [NM_031536]	0,73	0,72	0,64
MGC72578	NM_001009541	Rattus norvegicus similar to immediate early response 2 (MGC72578), mRNA [NM_001009541]	0,82	0,97	2,03
Mmp9	NM_031055	Rattus norvegicus matrix metalloproteinase 9 (Mmp9), mRNA [NM_031055]	0,76	0,83	0,82
Myh9	NM_013194	Rattus norvegicus myosin, heavy polypeptide 9 (Myh9), mRNA [NM_013194]	0,80	0,67	0,64
NM_001013166	NM_001013166	Rattus norvegicus germ cell associated 1 (predicted) (Gsg1_predicted), mRNA [NM_001013166]	0,78	0,77	0,75
Pbp	NM_017236	Rattus norvegicus phosphatidylethanolamine binding protein (Pbp), mRNA [NM_017236]	0,73	0,72	0,62
Prm1	NM_001002850	Rattus norvegicus protamine 1 (Prm1), mRNA [NM_001002850]	0,73	0,72	0,62
RGD:727882	NM_199083	Rattus norvegicus putative 28 kDa protein (LOC289809), mRNA [NM_199083]	0,79	0,70	1,03
RGD:735147	NM_198772	Rattus norvegicus Unknown (protein for MGC:72974) (MGC72974), mRNA [NM_198772]	0,52	0,54	0,66
RGD1305487_predicted	XM_214536	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CG9147-PB (predicted) (LOC291448), mRNA [XM_214536]	0,74	0,92	1,21
RGD1309526_predicted	NM_001010966	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ20477 (predicted) (RGD1309526_predicted), mRNA [NM_001010966]	0,66	0,80	0,64
RGD1310269_predicted	XM_234564	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC314472 (predicted) (LOC314472), mRNA [XM_234564]	0,72	0,91	2,27
RGD1311559_predicted	XM_235398	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC315055 (predicted) (LOC315055), mRNA [XM_235398]	0,80	1,20	1,10
Robo2	XM_213677	Rattus norvegicus roundabout (axon guidance receptor, Drosophila) homolog 2 (Robo2), mRNA [XM_213677]	0,74	1,00	0,93
Sh3md1_predicted	XM_219971	PREDICTED: Rattus norvegicus SH3 multiple domains 1 (predicted) (Sh3md1_predicted), mRNA [XM_219971]	0,83	1,02	0,85

Taar7b	NM_175586	Rattus norvegicus trace-amine-associated receptor 7b (Taar7b), mRNA [NM_175586]	0,74	1,09	1,03
TC522970	TC522970	Unknown	0,57	1,03	1,00
TC525323	TC525323	Unknown	0,73	1,00	1,29
TC525497	TC525497	Unknown	0,62	0,51	0,74
TC530262	TC530262	Unknown	0,72	0,83	0,78
TC545741	TC545741	Unknown	0,79	0,81	0,68
TC562876	TC562876	Unknown	0,56	0,50	0,65
Tgm1	NM_031659	Rattus norvegicus transglutaminase 1 (Tgm1), mRNA [NM_031659]	0,67	0,66	0,70
Thbd	NM_031771	Rattus norvegicus thrombomodulin (Thbd), mRNA [NM_031771]	0,62	0,47	0,66
Tnp1	NM_017056	Rattus norvegicus transition protein 1 (Tnp1), mRNA [NM_017056]	0,73	0,72	0,62
Tnp2	NM_017057	Rattus norvegicus transition protein 2 (Tnp2), mRNA [NM_017057]	0,73	0,72	0,63
Ubb	NM_138895	Rattus norvegicus polyubiquitin (Ubb), mRNA [NM_138895]	0,73	0,72	0,62
Ubb	NM_138895	Rattus norvegicus polyubiquitin (Ubb), mRNA [NM_138895]	0,73	0,72	0,62
Vgf	NM_030997	Rattus norvegicus VGF nerve growth factor inducible (Vgf), mRNA [NM_030997]	0,67	0,85	0,66
Viaat	NM_031782	Rattus norvegicus vesicular inhibitory amino acid transporter (Viaat), mRNA [NM_031782]	0,65	0,98	1,05

2.3 Liste des transcrits sur-accumulés à 30 mg/kg/j

GeneName	SystematicName	Description	Ratio 6	Ratio 30	Ratio 150
A_44_P213371	A_44_P213371	Unknown	1,14	1,25	1,39
A_44_P466474	A_44_P466474	Unknown	1,23	1,49	2,71
A_44_P470892	A_44_P470892	Unknown	1,16	1,26	1,28
A_44_P744264	A_44_P744264	Unknown	1,31	1,29	1,77
A_44_P791333	A_44_P791333	Unknown	1,01	1,27	1,10
AA899661	AA899661	AA899661 UI-R-E0-cy-a-08-0-UI.s1 UI-R-E0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E0-cy-a-08-0-UI 3', mRNA sequence [AA899661]	1,29	1,42	1,07
AA963075	AA963075	AA963075 UI-R-E1-fx-a-09-0-UI.s1 UI-R-E1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E1-fx-a-09-0-UI 3', mRNA sequence [AA963075]	2,67	2,76	1,23
AABR03068900	AABR03068900	Rattus norvegicus chromosome 9, 8 clones, strain BN/SsNHsdMCW RNOR03320893, whole genome shotgun sequence [AABR03068900]	1,33	1,49	1,08
Abcc5	NM_053924	Rattus norvegicus ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 5 (Abcc5), mRNA [NM_053924]	1,23	1,48	2,45
Acaa2	NM_130433	Rattus norvegicus acetyl-Coenzyme A acyltransferase 2 (mitochondrial 3-oxoacyl-Coenzyme A thiolase) (Acaa2), mRNA [NM_130433]	1,33	1,68	1,81
Acaa2	NM_130433	Rattus norvegicus acetyl-Coenzyme A acyltransferase 2 (mitochondrial 3-oxoacyl-Coenzyme A thiolase) (Acaa2), mRNA [NM_130433]	1,25	1,73	2,11
Acadm	NM_016986	Rattus norvegicus acetyl-coenzyme A dehydrogenase, medium chain (Acadm), mRNA [NM_016986]	1,42	1,46	1,60
Acads	NM_022512	Rattus norvegicus acyl-coenzyme A dehydrogenase, short chain (Acads), mRNA [NM_022512]	1,21	1,42	1,65
Acadvl	NM_012891	Rattus norvegicus acyl-Coenzyme A dehydrogenase, very long chain (Acadvl), mRNA [NM_012891]	1,11	1,30	1,36
Acsl4	NM_053623	Rattus norvegicus acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (Acsl4), mRNA [NM_053623]	1,59	1,22	1,25
Adcy9_predicted	XM_220178	PREDICTED: Rattus norvegicus adenylate cyclase 9 (predicted) (Adcy9_predicted), mRNA [XM_220178]	1,49	1,22	1,47
Adh1	NM_019286	Rattus norvegicus alcohol dehydrogenase 1 (Adh1), mRNA [NM_019286]	1,23	1,59	1,32
AI008579	AI008579	AI008579 EST203030 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone REMAZ30 3' end, mRNA sequence [AI008579]	1,17	1,21	1,10
AI170501	AI170501	AI170501 EST216429 Normalized rat lung, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RLUCO50 3' end, mRNA sequence [AI170501]	0,84	1,27	1,26
AI171355	AI171355	AI171355 EST217310 Normalized rat muscle, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RMUBJ63 3' end, mRNA sequence [AI171355]	0,94	1,29	1,28
AI236342	AI236342	AI236342 EST232904 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone ROVDE43 3' end, mRNA sequence [AI236342]	0,97	1,21	1,16
AI236975	AI236975	AI236975 EST233537 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone ROVDN14 3' end, mRNA sequence [AI236975]	1,11	1,33	0,86
AI548017	AI548017	AI548017 UI-R-C3-tc-d-01-0-UI.s1 UI-R-C3 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C3-tc-d-01-0-UI 3', mRNA sequence [AI548017]	1,42	1,42	1,56
AI548201	AI548201	AI548201 UI-R-C3-su-f-02-0-UI.s1 UI-R-C3 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C3-su-f-02-0-UI 3', mRNA sequence [AI548201]	1,26	1,60	1,01
Ak3	NM_013218	Rattus norvegicus adenylate kinase 3 (Ak3), mRNA [NM_013218]	1,16	1,25	1,96
Ak3	NM_013218	Rattus norvegicus adenylate kinase 3 (Ak3), mRNA [NM_013218]	0,91	1,32	1,94
Akr1b8	NM_173136	Rattus norvegicus aldo-keto reductase family 1, member B8 (Akr1b8), mRNA [NM_173136]	1,52	1,46	4,19
Alad	NM_012899	Rattus norvegicus aminolevulinic acid, delta-, dehydratase (Alad), mRNA [NM_012899]	0,97	1,26	1,64
Alas1	NM_024484	Rattus norvegicus aminolevulinic acid synthase 1 (Alas1), mRNA [NM_024484]	1,19	1,47	2,88

Aldh1a1	NM_022407	Rattus norvegicus aldehyde dehydrogenase family 1, member A1 (Aldh1a1), mRNA [NM_022407]	1,55	1,93	2,20
App	NM_019288	Rattus norvegicus amyloid beta (A4) precursor protein (App), mRNA [NM_019288]	1,00	1,31	1,85
Aqp9	NM_022960	Rattus norvegicus aquaporin 9 (Aqp9), mRNA [NM_022960]	1,18	1,46	1,39
Arts1	NM_030836	Rattus norvegicus type 1 tumor necrosis factor receptor shedding aminopeptidase regulator (Arts1), mRNA [NM_030836]	1,13	1,25	1,86
Ass	NM_013157	Rattus norvegicus arginosuccinate synthetase (Ass), mRNA [NM_013157]	1,41	1,86	2,12
Atp2b3	XM_343839	PREDICTED: Rattus norvegicus ATPase, Ca++ transporting, plasma membrane 3 (Atp2b3), mRNA [XM_343839]	1,64	1,92	3,71
Atp6ap1	NM_031785	Rattus norvegicus ATPase, H+ transporting, lysosomal (vacuolar proton pump), subunit 1 (Atp6ap1), mRNA [NM_031785]	1,02	1,20	1,43
AW915764	AW915764	AW915764 EST347068 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIDA44 5' end, mRNA sequence [AW915764]	1,30	1,51	1,76
AW916440	AW916440	AW916440 EST347744 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIDQ18 5' end, mRNA sequence [AW916440]	1,08	1,23	1,52
AW917623	AW917623	AW917623 EST348927 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEG15 5' end, mRNA sequence [AW917623]	1,04	1,39	1,86
AW920082	AW920082	AW920082 EST351490 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIGS22 5' end, mRNA sequence [AW920082]	1,28	1,24	1,15
AY011335	AY011335	Rattus norvegicus amyloid beta precursor protein (App) gene, partial cds [AY011335]	1,10	1,39	2,25
Bbs1_predicted	XM_219691	Rattus norvegicus similar to Bardet-Biedl syndrome 1 (LOC309156), mRNA [XM_219691]	1,33	1,34	1,19
BC090353	BC090353	Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7313591. [BC090353]	1,28	1,29	1,36
BE098727	BE098727	BE098727 UI-R-BJ1-atd-c-03-0-UI.s1 UI-R-BJ1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ1-atd-c-03-0-UI 3', mRNA sequence [BE098727]	1,02	1,40	0,90
BE109924	BE109924	UI-R-CA0-axi-h-11-0-UI.s1 UI-R-CA0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CA0-axi-h-11-0-UI 3', mRNA sequence [BE109924]	1,05	1,36	0,97
BE112513	BE112513	BE112513 UI-R-BJ1-avi-e-12-0-UI.s1 UI-R-BJ1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ1-avi-e-12-0-UI 3', mRNA sequence [BE112513]	1,18	1,22	1,18
Bf	NM_212466	Rattus norvegicus B-factor, properdin (Bf), mRNA [NM_212466]	1,10	1,45	1,19
BF289650	BF289650	BF289650 EST454241 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIHJ43, mRNA sequence [BF289650]	1,39	1,54	3,15
BF548067	BF548067	BF548067 UI-R-A0-ad-f-05-0-UI.r1 UI-R-A0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A0-ad-f-05-0-UI 5', mRNA sequence [BF548067]	1,18	1,29	2,19
BF550045	BF550045	BF550045 UI-R-E0-cp-h-06-0-UI.r1 UI-R-E0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E0-cp-h-06-0-UI 5', mRNA sequence [BF550045]	0,88	1,41	1,91
BF556567	BF556567	BF556567 UI-R-E1-fu-g-10-0-UI.r1 UI-R-E1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E1-fu-g-10-0-UI 5', mRNA sequence [BF556567]	1,10	1,55	3,36
BF557949	BF557949	BF557949 UI-R-C0-hg-a-04-0-UI.r1 UI-R-C0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C0-hg-a-04-0-UI 5', mRNA sequence [BF557949]	1,37	1,53	2,81
BF558804	BF558804	BF558804 UI-R-A1-du-a-12-0-UI.r1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-du-a-12-0-UI 5', mRNA sequence [BF558804]	1,06	1,22	0,84
BG663067	BG663067	BG663067 DRA07G07 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRA07G07 5', mRNA sequence [BG663067]	1,04	1,72	1,99
BG671331	BG671331	BG671331 DRNBPB03 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRNBPB03 5', mRNA sequence [BG671331]	1,16	1,30	1,51
BI395434	BI395434	BI395434 EST531301 Rat gene index, normalized rat, norvegicus Rattus norvegicus cDNA clone RGIAL83 5' end, mRNA sequence [BI395434]	1,02	1,27	1,55
BM383868	BM383868	BM383868 UI-R-DM1-ckc-g-06-0-UI.s1 UI-R-DM1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-DM1-ckc-g-06-0-UI 3', mRNA sequence [BM383868]	1,64	2,56	5,27
BM391518	BM391518	BM391518 UI-R-DY0-ckr-g-20-0-UI.s1 NCL_CGAP_DY0 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7327246 3', mRNA sequence [BM391518]	1,21	1,65	1,32
BX883045	BX883045	Rattus norvegicus chromosome 20, major histocompatibility complex, assembled from 40 BACs, strain Brown Norway (BN/ssNHSd), RT1n haplotype; segment 4/11 [BX883045]	1,08	1,42	2,20
Bzrp	NM_012515	Rattus norvegicus benzodiazepin receptor (Bzrp), mRNA [NM_012515]	1,11	1,51	1,13
CA504264	CA504264	UI-R-FJ0-cpw-i-06-0-UI.s1 UI-R-FJ0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-FJ0-cpw-i-06-0-UI 3', mRNA sequence [CA504264]	1,25	1,49	1,04
Cd36	NM_031561	Rattus norvegicus cd36 antigen (Cd36), mRNA [NM_031561]	1,22	1,96	2,70
Cd81	NM_013087	Rattus norvegicus CD 81 antigen (Cd81), mRNA [NM_013087]	1,14	1,46	1,45
Ces3	NM_133295	Rattus norvegicus carboxylesterase 3 (Ces3), mRNA [NM_133295]	1,15	1,41	1,93
Chd2_predicted	XM_218790	PREDICTED: Rattus norvegicus chromodomain helicase DNA binding protein 2 (predicted) (Chd2_predicted), mRNA [XM_218790]	1,31	1,20	1,04
Cidea_predicted	XM_214551	PREDICTED: Rattus norvegicus cell death-inducing DNA fragmentation factor, alpha subunit-like effector A (predicted) (Cidea_predicted), mRNA [XM_214551]	1,35	1,50	0,89
Cipar1	NM_173114	Rattus norvegicus castration induced prostatic apoptosis-related protein 1 (Cipar1), mRNA [NM_173114]	1,46	2,22	2,88
Cml5	AF187100	Rattus norvegicus putative N-acetyltransferase CML5 (Cml5) mRNA, partial cds. [AF187100]	1,02	1,40	3,72
Comtd1_predicted	XM_223785	PREDICTED: Rattus norvegicus catechol-O-methyltransferase domain containing 1 (predicted) (Comtd1_predicted), mRNA [XM_223785]	1,23	1,32	1,76
Crot	NM_031987	Rattus norvegicus carnitine O-octanoyltransferase (Crot), mRNA [NM_031987]	1,71	2,15	2,15
Ctsd	NM_134334	Rattus norvegicus cathepsin D (Ctsd), mRNA [NM_134334]	1,20	1,39	2,07
Ctsh	NM_012939	Rattus norvegicus cathepsin H (Ctsh), mRNA [NM_012939]	1,65	2,05	2,11
Cyp11a1	NM_017286	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 11, subfamily a, polypeptide 1 (Cyp11a1), mRNA [NM_017286]	2,39	3,30	3,60
Cyp17a1	NM_012753	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 17, subfamily a, polypeptide 1 (Cyp17a1), mRNA [NM_012753]	2,48	3,93	8,18
Cyp1b1	NM_012940	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 1, subfamily b, polypeptide 1 (Cyp1b1), mRNA [NM_012940]	1,54	1,86	2,89
CYTB	AF295545	AF295545 Rattus norvegicus cytochrome b mRNA, complete cds; mitochondrial gene for mitochondrial product [AF295545]	1,25	1,27	1,42
Dci	NM_017306	Rattus norvegicus dodecenoyl-coenzyme A delta isomerase (Dci), mRNA [NM_017306]	1,16	1,38	1,60
Ddc	NM_012545	Rattus norvegicus dopa decarboxylase (Ddc), mRNA [NM_012545]	1,27	1,67	1,73

Decr1	NM_057197	Rattus norvegicus 2,4-dienoyl CoA reductase 1, mitochondrial (Decr1), mRNA [NM_057197]	1,35	1,50	2,19
Dhcr7	NM_022389	Rattus norvegicus 7-dehydrocholesterol reductase (Dhcr7), mRNA [NM_022389]	1,13	1,47	2,78
Dhrs4	NM_153315	Rattus norvegicus dehydrogenase/reductase (SDR family) member 4 (Dhrs4), mRNA [NM_153315]	1,72	1,61	1,24
Dp1_predicted	XM_344661	PREDICTED: Rattus norvegicus deleted in polyposis 1 (predicted) (Dp1_predicted), mRNA [XM_344661]	1,40	1,62	1,87
Dpt_predicted	XM_213925	PREDICTED: Rattus norvegicus dermatopontin (predicted) (Dpt_predicted), mRNA [XM_213925]	1,79	1,84	2,91
Ebp	NM_057137	Rattus norvegicus phenylalkylamine Ca2+ antagonist (emopamil) binding protein (Ebp), mRNA [NM_057137]	1,24	2,08	2,30
Echs1	NM_078623	Rattus norvegicus enoyl Coenzyme A hydratase, short chain, 1, mitochondrial (Echs1), mRNA [NM_078623]	1,33	1,51	2,24
Emp3	NM_030847	Rattus norvegicus epithelial membrane protein 3 (Emp3), mRNA [NM_030847]	1,18	1,47	2,20
Emr1	NM_001007557	Rattus norvegicus EGF-like module containing, mucin-like, hormone receptor-like sequence 1 (Emr1), mRNA [NM_001007557]	0,89	1,22	0,82
ENSRNOT00000007552	ENSRNOT00000007552	Rattus norvegicus succinate-Coenzyme A ligase, GDP-forming, beta subunit (predicted), mRNA (cDNA clone IMAGE:7127932), partial cds. [BC089863]	1,10	1,23	1,43
ENSRNOT00000048767	ENSRNOT00000048767	BF289485 EST454076 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIHH80, mRNA sequence [BF289485]	1,13	1,40	1,55
Entpd5	NM_199394	Rattus norvegicus ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5 (Entpd5), mRNA [NM_199394]	1,02	1,24	1,79
Etfdh	NM_198742	Rattus norvegicus electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase (Etfdh), mRNA [NM_198742]	1,61	1,70	1,93
Fabp3	NM_024162	Rattus norvegicus fatty acid binding protein 3 (Fabp3), mRNA [NM_024162]	1,47	1,80	2,16
Fads1	NM_053445	Rattus norvegicus fatty acid desaturase 1 (Fads1), mRNA [NM_053445]	1,35	1,35	1,85
Fdx1	NM_017126	Rattus norvegicus ferredoxin 1 (Fdx1), mRNA [NM_017126]	1,19	1,73	2,74
Fdxr	NM_024153	Rattus norvegicus ferredoxin reductase (Fdxr), mRNA [NM_024153]	1,32	1,57	2,22
Fmo2	NM_144737	Rattus norvegicus flavin containing monooxygenase 2 (Fmo2), mRNA [NM_144737]	1,42	1,41	1,62
Fthfd	NM_022547	Rattus norvegicus formyltetrahydrofolate dehydrogenase (Fthfd), mRNA [NM_022547]	1,27	1,40	2,15
Fxyd5	NM_021909	Rattus norvegicus FXYD domain-containing ion transport regulator 5 (Fxyd5), mRNA [NM_021909]	1,55	1,88	2,07
G6pdx	NM_017006	Rattus norvegicus glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6pdx), mRNA [NM_017006]	1,16	1,50	2,25
Gja1	NM_012567	Rattus norvegicus gap junction membrane channel protein alpha 1 (Gja1), mRNA [NM_012567]	1,24	1,43	1,77
Gsta2	NM_017013	Rattus norvegicus glutathione-S-transferase, alpha type2 (Gsta2), mRNA [NM_017013]	1,12	1,36	0,99
Gsta2	NM_017013	Rattus norvegicus glutathione-S-transferase, alpha type2 (Gsta2), mRNA [NM_017013]	1,19	1,47	1,18
Gsta4_predicted	XM_217195	PREDICTED: Rattus norvegicus glutathione S-transferase, alpha 4 (predicted) (Gsta4_predicted), mRNA [XM_217195]	1,17	1,36	1,18
Gsta5	NM_031509	Rattus norvegicus glutathione S-transferase A5 (Gsta5), mRNA [NM_031509]	1,28	1,64	2,36
Gstm1	NM_017014	Rattus norvegicus glutathione S-transferase, mu 1 (Gstm1), mRNA [NM_017014]	1,25	1,30	1,49
Gstm2	NM_177426	Rattus norvegicus glutathione S-transferase, mu 2 (Gstm2), mRNA [NM_177426]	1,18	1,21	1,32
Gsto1	NM_001007602	Rattus norvegicus glutathione S-transferase omega 1 (Gsto1), mRNA [NM_001007602]	1,15	1,37	1,52
Hadhsc	NM_057186	Rattus norvegicus L-3-hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase, short chain (Hadhsc), mRNA [NM_057186]	1,04	1,51	1,87
Hao2	NM_032082	Rattus norvegicus hydroxyacid oxidase 2 (long chain) (Hao2), mRNA [NM_032082]	1,83	2,15	2,42
Hmgcs1	NM_017268	Rattus norvegicus 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 1 (Hmgcs1), mRNA [NM_017268]	1,09	1,50	3,10
Hmgcs2	NM_173094	Rattus norvegicus 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2 (Hmgcs2), mRNA [NM_173094]	1,22	1,38	1,85
Hp	NM_012582	Rattus norvegicus haptoglobin (Hp), mRNA [NM_012582]	2,12	2,60	2,98
Hpgd	NM_024390	Rattus norvegicus 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (Hpgd), mRNA [NM_024390]	1,32	1,50	1,83
Hrasls3	NM_017060	Rattus norvegicus HRAS like suppressor (Hrasls3), mRNA [NM_017060]	1,42	1,75	2,44
Hrasls3	NM_017060	Rattus norvegicus HRAS like suppressor (Hrasls3), mRNA [NM_017060]	1,37	1,81	2,45
Hsd11b1	NM_017080	Rattus norvegicus hydroxysteroid 11-beta dehydrogenase 1 (Hsd11b1), mRNA [NM_017080]	1,34	1,28	1,15
Hsd11b1	NM_017080	Rattus norvegicus hydroxysteroid 11-beta dehydrogenase 1 (Hsd11b1), mRNA [NM_017080]	1,48	1,70	2,24
Hsd17b10	NM_031682	Rattus norvegicus hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 10 (Hsd17b10), mRNA [NM_031682]	1,21	1,72	2,32
Hsd3b1	NM_017265	Rattus norvegicus hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta- and steroid delta-isomerase 1 (Hsd3b1), mRNA [NM_017265]	2,06	4,27	7,09
Hsd3b1_predicted	NM_001007719	Rattus norvegicus hydroxysteroid dehydrogenase-1, delta<5>-3-beta (predicted) (Hsd3b1_predicted), mRNA [NM_001007719]	4,30	4,49	5,69
Hspd1	NM_022229	Rattus norvegicus heat shock protein 1 (chaperonin) (Hspd1), mRNA [NM_022229]	1,09	1,33	2,60
Hspd1	NM_022229	Rattus norvegicus heat shock protein 1 (chaperonin) (Hspd1), mRNA [NM_022229]	1,19	1,50	2,66
Hspd1	NM_022229	Rattus norvegicus heat shock protein 1 (chaperonin) (Hspd1), mRNA [NM_022229]	1,11	1,56	2,88
Hspe1	NM_012966	Rattus norvegicus heat shock protein 10 kDa protein 1 (Hspe1), mRNA [NM_012966]	1,40	1,95	3,85
Ifitm2	NM_030833	Rattus norvegicus interferon induced transmembrane protein 2 (1-8D) (Ifitm2), mRNA [NM_030833]	1,28	1,33	1,73
Igfbp2	NM_013122	Rattus norvegicus insulin-like growth factor binding protein 2 (Igfbp2), mRNA [NM_013122]	1,32	2,15	3,48
Il18	NM_019165	Rattus norvegicus interleukin 18 (Il18), mRNA [NM_019165]	1,15	1,44	1,78
Impdh1_predicted	XM_342650	PREDICTED: Rattus norvegicus IMP (inosine monophosphate) dehydrogenase 1 (predicted) (Impdh1_predicted), mRNA [XM_342650]	1,09	1,32	2,31
Ins3	NM_053680	Rattus norvegicus insulin-like 3 (Ins3), mRNA [NM_053680]	1,19	1,66	2,17
Itpr2	NM_031046	Rattus norvegicus inositol 1,4,5-triphosphate receptor 2 (Itpr2), mRNA [NM_031046]	1,04	1,29	0,95
Kcnh1	NM_031742	Rattus norvegicus potassium voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 1 (Kcnh1), mRNA [NM_031742]	1,13	1,41	2,52
Kcnj3	NM_031610	Rattus norvegicus potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 3 (Kcnj3), mRNA [NM_031610]	1,24	1,39	1,04

Klra5	NM_198746	Rattus norvegicus killer cell lectin-like receptor, subfamily A, member 5 (Klra5), mRNA [NM_198746]	0,98	1,31	0,98
Kremen	NM_053649	Rattus norvegicus kringle containing transmembrane protein (Kremen), mRNA [NM_053649]	2,80	6,61	5,84
LOC289614	XM_212746	Rattus norvegicus similar to Heat shock 60 kD protein 1 (LOC289614), mRNA [XM_212746]	1,24	1,60	2,88
LOC289671	XM_223466	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Hypothetical protein, MNCb-2622 (LOC289671), mRNA [XM_223466]	1,42	1,68	1,13
LOC292391	XM_217987	Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC292391), mRNA [XM_217987]	1,00	1,23	0,75
LOC293310	XM_219062	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to DUB-1 (LOC293310), mRNA [XM_219062]	1,33	1,75	1,18
LOC293745	XM_219592	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC293745), mRNA [XM_219592]	1,26	1,31	0,99
LOC293745	XM_219592	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC293745), mRNA [XM_219592]	1,39	1,43	1,07
LOC293862	XM_215220	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to XAP-5 protein (LOC293862), mRNA [XM_215220]	1,12	1,26	2,08
LOC294067	XM_215278	Rattus norvegicus similar to pp21 homolog (LOC294067), mRNA [XM_215278]	1,78	2,44	2,98
LOC294660	XM_212921	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to peroxiredoxin 1 (LOC294660), mRNA [XM_212921]	0,97	1,22	1,24
LOC296402	XM_215954	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Docking protein 5 (Downstream of tyrosine kinase 5) (Protein dok-5) (LOC296402), mRNA [XM_215954]	1,29	1,39	0,73
LOC298241	XM_233177	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CPN10-like protein (LOC298241), mRNA [XM_233177]	1,27	1,97	3,24
LOC302346	XM_228475	Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (phosphorylating) (EC 1.2.1.12) - mouse (LOC302346), mRNA [XM_228475]	1,07	1,29	1,08
LOC302797	XM_229115	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60 kDa heat shock protein, mitochondrial precursor (Hsp60) (60 kDa chaperonin) (CPN60) (Heat shock protein 60) (HSP-60) (Mitochondrial matrix protein P1) (HSP-65) (LOC302797), mRNA [XM_229115]	1,30	1,62	2,83
LOC304252	XM_221875	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4930434E21 (LOC304252), mRNA [XM_221875]	0,97	1,42	1,48
LOC304754	XM_222590	Rattus norvegicus similar to Proteasome activator complex subunit 2 (Proteasome activator 28-beta subunit) (PA28beta) (PA28b) (Activator of multicatalytic protease subunit 2) (11S regulator complex beta subunit) (REG-beta) (LOC304754), mRNA [XM_222590]	1,22	1,24	1,38
LOC306365	XM_224750	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to spermatogenic cell-specific gene 2 (LOC306365), mRNA [XM_224750]	1,25	1,29	1,10
LOC306366	XM_240367	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ENSANGP00000020885 (LOC306366), mRNA [XM_240367]	1,17	1,25	0,99
LOC308536	XM_218529	Rattus norvegicus similar to Phosphoglycerate kinase, testis specific (LOC308536), mRNA [XM_218529]	1,07	1,33	1,56
LOC308950	XM_219278	Rattus norvegicus similar to 60 kDa heat shock protein, mitochondrial precursor (Hsp60) (60 kDa chaperonin) (CPN60) (Heat shock protein 60) (HSP-60) (Mitochondrial matrix protein P1) (HSP-65) (LOC308950), mRNA [XM_219278]	1,23	1,30	1,84
LOC314570	XM_234810	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to LRRGT00083 (LOC314570), mRNA [XM_234810]	1,24	1,29	1,32
LOC360478	XM_346881	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC360478 (LOC360478), mRNA [XM_346881]	1,30	1,35	1,97
LOC361132	XM_341419	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC361132 (LOC361132), mRNA [XM_341419]	1,19	1,26	1,16
LOC364352	XM_344375	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to T cell receptor alpha chain (LOC364352), mRNA [XM_344375]	1,04	1,62	1,60
LOC366303	XM_345499	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Nonspecific lipid-transfer protein, mitochondrial precursor (NSL-TP) (Sterol carrier protein 2) (SCP-2) (Sterol carrier protein X) (SCP-X) (SCPX) (LOC366303), mRNA [XM_345499]	1,16	1,22	1,34
Lpd	NM_134389	Rattus norvegicus lipidosis (Lpd), mRNA [NM_134389]	1,43	1,57	1,79
Lr8	NM_134390	Rattus norvegicus LR8 protein (Lr8), mRNA [NM_134390]	1,41	1,89	3,05
Lrat	NM_022280	Rattus norvegicus lecithin-retinol acyltransferase (Lrat), mRNA [NM_022280]	1,12	1,56	2,53
M34230	M34230	RATHPA1 Rat haptoglobin (Hp) gene, exons 1,2 and 3 [M34230]	1,58	1,80	1,56
Maged2	NM_080479	Rattus norvegicus melanoma antigen, family D, 2 (Maged2), mRNA [NM_080479]	1,28	1,43	1,84
Maged2	NM_080479	Rattus norvegicus melanoma antigen, family D, 2 (Maged2), mRNA [NM_080479]	1,14	1,54	1,91
Mdh1	NM_033235	Rattus norvegicus malate dehydrogenase 1, NAD (soluble) (Mdh1), mRNA [NM_033235]	1,16	1,61	1,87
MGC105647	NM_001007008	Rattus norvegicus similar to Nur77 downstream protein 2 (MGC105647), mRNA [NM_001007008]	1,06	1,22	1,67
MGC72973	NM_198776	Rattus norvegicus beta-glo (MGC72973), mRNA [NM_198776]	0,93	1,38	1,88
MGC95138	NM_001006995	Rattus norvegicus similar to acetyl CoA transferase-like (MGC95138), mRNA [NM_001006995]	1,16	1,56	1,79
Mgmt	NM_012861	Rattus norvegicus O-6-methylguanine-DNA methyltransferase (Mgmt), mRNA [NM_012861]	1,35	1,41	2,81
Mgst1	NM_134349	Rattus norvegicus microsomal glutathione S-transferase 1 (Mgst1), mRNA [NM_134349]	1,23	1,46	1,49
Mgst2_predicted	XM_215562	PREDICTED: Rattus norvegicus microsomal glutathione S-transferase 2 (predicted) (Mgst2_predicted), mRNA [XM_215562]	1,06	1,22	1,62
Mlp	NM_030862	Rattus norvegicus MARCKS-like protein (Mlp), mRNA [NM_030862]	1,27	1,56	1,12
Ngfrap1	NM_053401	Rattus norvegicus nerve growth factor receptor (TNFRSF16) associated protein 1 (Ngfrap1), mRNA [NM_053401]	1,58	2,19	2,74
Nipsnap1_predicted	XM_341249	PREDICTED: Rattus norvegicus 4-nitrophenylphosphatase domain and non-neuronal SNAP25-like protein homolog 1 (C. elegans) (predicted) (Nipsnap1_predicted), mRNA [XM_341249]	1,12	1,51	1,52
NM_001013071	NM_001013071	Rattus norvegicus transmembrane 7 superfamily member 2 (predicted) (Tm7sf2_predicted), mRNA [NM_001013071]	1,83	4,38	6,46
NM_001013853	NM_001013853	Rattus norvegicus globin, alpha (LOC287167), mRNA [NM_001013853]	1,12	1,29	1,93
NM_001013889	NM_001013889	Rattus norvegicus carboxylesterase-like (LOC291863), mRNA [NM_001013889]	1,26	1,36	1,38
NM_001014088	NM_001014088	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2310005P05 (predicted) (RGD1307401_predicted), mRNA [NM_001014088]	1,18	1,46	1,91
NM_001014125	NM_001014125	Rattus norvegicus protein disulfide isomerase-associated 5 (Pdia5), mRNA [NM_001014125]	1,26	1,43	1,14
NM_001014157	NM_001014157	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ14909 (predicted) (RGD1311264_predicted), mRNA [NM_001014157]	1,16	1,28	1,21
NM_001024865	NM_001024865	Rattus norvegicus mitochondrial ribosomal protein L40 (Mrpl40), mRNA [NM_001024865]	1,18	1,42	1,11
NM_201423	NM_201423	Rattus norvegicus UDP glycosyltransferase 1 family polypeptide A2 (Ugt1a2), mRNA [NM_201423]	1,02	1,32	1,11

NM_201423	NM_201423	Rattus norvegicus UDP glycosyltransferase 1 family polypeptide A2 (Ugt1a2), mRNA [NM_201423]	1,32	1,48	1,63
Np	XM_214155	PREDICTED: Rattus norvegicus nucleoside phosphorylase (Np), mRNA [XM_214155]	1,05	1,25	2,12
Ogn_predicted	XM_214441	PREDICTED: Rattus norvegicus osteoglycin (predicted) (Ogn_predicted), mRNA [XM_214441]	1,31	1,66	2,49
Omd	NM_031817	Rattus norvegicus osteomodulin (Omd), mRNA [NM_031817]	1,28	1,77	2,54
Padi2	NM_017226	Rattus norvegicus peptidyl arginine deiminase, type II (Padi2), mRNA [NM_017226]	0,78	1,69	0,99
Pdcd8	NM_031356	Rattus norvegicus programmed cell death 8 (Pdcd8), mRNA [NM_031356]	0,92	1,25	1,10
Peci	NM_001006966	Rattus norvegicus similar to Peci protein (Peci), mRNA [NM_001006966]	1,20	1,43	1,60
Pgk1	NM_053291	Rattus norvegicus phosphoglycerate kinase 1 (Pgk1), mRNA [NM_053291]	1,10	1,35	1,49
Pgrmc1	NM_021766	Rattus norvegicus progesterone receptor membrane component 1 (Pgrmc1), mRNA [NM_021766]	1,34	1,55	2,06
Phr1_predicted	XM_214245	PREDICTED: Rattus norvegicus pam, highwire, rpm 1 (predicted) (Phr1_predicted), mRNA [XM_214245]	1,18	1,24	1,41
Pnoc	NM_013007	Rattus norvegicus prepronociceptin (Pnoc), mRNA [NM_013007]	0,94	2,04	1,99
Ppif	NM_172243	Rattus norvegicus peptidylprolyl isomerase F (cyclophilin F) (Ppif), mRNA [NM_172243]	1,12	1,39	1,62
Prdx1	NM_057114	Rattus norvegicus peroxiredoxin 1 (Prdx1), mRNA [NM_057114]	0,94	1,30	1,32
Prdx3	NM_022540	Rattus norvegicus peroxiredoxin 3 (Prdx3), mRNA [NM_022540]	1,53	2,23	2,64
Psen2	NM_031087	Rattus norvegicus presenilin 2 (Psen2), mRNA [NM_031087]	1,09	1,45	2,02
Psm5_predicted	XM_216041	PREDICTED: Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 5 (predicted) (Psm5_predicted), mRNA [XM_216041]	1,13	1,31	1,28
Psm2	NM_017257	Rattus norvegicus protease (prosome, macropain) 28 subunit, beta (Psm2), mRNA [NM_017257]	1,00	1,24	1,40
Ptp4a1	NM_031579	Rattus norvegicus protein tyrosine phosphatase 4a1 (Ptp4a1), mRNA [NM_031579]	1,19	1,34	1,96
Pxmp2	NM_031587	Rattus norvegicus peroxisomal membrane protein 2 (Pxmp2), mRNA [NM_031587]	1,18	1,53	1,59
Retsat	NM_145084	Rattus norvegicus all-trans-13,14-dihydroretinol saturase (Retsat), mRNA [NM_145084]	1,26	1,57	1,32
RGD:1303130	NM_001004226	Rattus norvegicus kidney predominant protein NCU-G1 (0610031j06rik), mRNA [NM_001004226]	1,46	1,59	2,11
RGD:1303312	NM_001004220	Rattus norvegicus electron-transfer-flavoprotein, beta polypeptide (Etfb), mRNA [NM_001004220]	1,04	1,27	1,48
RGD:621692	NM_134395	Rattus norvegicus P11 protein (Cdtw1), mRNA [NM_134395]	1,15	1,27	1,42
RGD:708363	NM_173123	Rattus norvegicus cytochrome P450 4F4 (Cyp4f4), mRNA [NM_173123]	1,22	1,64	1,60
RGD:708500	NM_139101	Rattus norvegicus potassium channel regulator 1 (LOC245960), mRNA [NM_139101]	1,26	1,21	1,07
RGD:735139	BC062391	Rattus norvegicus CG6210-like, mRNA (cDNA clone MGC:72636 IMAGE:5621215), complete cds. [BC062391]	1,32	1,50	2,41
RGD1306952_predicted	NM_001008770	Rattus norvegicus similar to Ab2-225 (predicted) (RGD1306952_predicted), mRNA [NM_001008770]	1,43	1,99	2,20
RGD1307129_predicted	XM_343337	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1110020C13 (LOC363004), mRNA [XM_343337]	1,10	1,31	1,72
RGD1307610_predicted	XM_342871	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ10770 (LOC362551), mRNA [XM_342871]	1,02	1,77	2,30
RGD1307838_predicted	XM_233629	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to KIAA1096 protein (predicted) (LOC298617), mRNA [XM_233629]	1,40	1,69	1,30
RGD1309765_predicted	XM_224848	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC290746), mRNA [XM_224848]	1,37	1,81	1,26
RGD1310494_predicted	XM_213637	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Nit protein 2 (predicted) (LOC288174), mRNA [XM_213637]	1,15	1,31	1,77
RGD1310648_predicted	XM_213659	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Fat cell-specific low molecular weight protein (Fat tissue-specific low MW protein) (predicted) (LOC288271), mRNA [XM_213659]	1,72	2,50	4,41
RGD1310725_predicted	XM_216137	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC297077 (predicted) (LOC297077), mRNA [XM_216137]	1,22	1,67	2,55
Rgnf_predicted	XM_342179	PREDICTED: Rattus norvegicus Rho-guanine nucleotide exchange factor (predicted) (Rgnf_predicted), mRNA [XM_342179]	1,40	1,46	1,01
Rhbg	NM_183054	Rattus norvegicus Rhesus blood group-associated B glycoprotein (Rhbg), mRNA [NM_183054]	1,23	1,69	1,54
Rnh1	NM_139105	Rattus norvegicus ribonuclease/angiogenin inhibitor 1 (Rnh1), mRNA [NM_139105]	1,11	1,27	1,48
Rpl39	NM_012875	Rattus norvegicus ribosomal protein L39 (Rpl39), mRNA [NM_012875]	1,07	1,24	2,02
RT1-A2	NM_001008829	Rattus norvegicus RT1 class Ia, locus A2 (RT1-A2), mRNA [NM_001008829]	1,13	1,22	1,32
Sat	NM_001007667	Rattus norvegicus spermidine/spermine N1-acetyl transferase (Sat), mRNA [NM_001007667]	1,44	2,17	2,13
Sc4mol	NM_080886	Rattus norvegicus sterol-C4-methyl oxidase-like (Sc4mol), mRNA [NM_080886]	1,13	1,83	4,41
Scarb1	NM_031541	Rattus norvegicus scavenger receptor class B, member 1 (Scarb1), mRNA [NM_031541]	1,84	2,57	4,37
Scsep1	NM_133383	Rattus norvegicus serine carboxypeptidase 1 (Scsep1), mRNA [NM_133383]	1,37	1,47	2,12
Sdhb_predicted	XM_216558	PREDICTED: Rattus norvegicus succinate dehydrogenase complex, subunit B, iron sulfur (lp) (predicted) (Sdhb_predicted), mRNA [XM_216558]	1,14	1,21	1,25
Sftpc	NM_017342	Rattus norvegicus surfactant associated protein C (Sftpc), mRNA [NM_017342]	1,27	1,47	1,50
Slc16a11_predicted	XM_213334	PREDICTED: Rattus norvegicus solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 11 (predicted) (Slc16a11_predicted), mRNA [XM_213334]	1,40	1,37	1,63
Slc1a3	NM_019225	Rattus norvegicus solute carrier family 1 (glial high affinity glutamate transporter), member 3 (Slc1a3), mRNA [NM_019225]	1,22	1,39	1,62
Slc25a27	AJ300164	Rattus norvegicus mRNA for uncoupling protein UCP-4 (Ucp-4 gene) isoform c. [AJ300164]	1,03	1,32	0,98
Slc27a3_predicted	XM_215605	PREDICTED: Rattus norvegicus solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 3 (predicted) (Slc27a3_predicted), mRNA [XM_215605]	1,26	1,55	1,86
Slc7a8	NM_053442	Rattus norvegicus solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 8 (Slc7a8), mRNA [NM_053442]	0,97	1,37	1,93
Sod1	BM391104	UI-R-CN1-cjr-j-02-0-UI.s1 UI-R-CN1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CN1-cjr-j-02-0-UI 3', mRNA sequence [BM391104]	1,01	1,21	1,39
Spp1	NM_012881	Rattus norvegicus secreted phosphoprotein 1 (Spp1), mRNA [NM_012881]	1,53	2,06	1,87
Ssh3_predicted	NM_001012217	Rattus norvegicus slingshot homolog 3 (Drosophila) (predicted) (Ssh3_predicted), mRNA [NM_001012217]	1,27	1,23	2,13

Sstr3	NM_133522	Rattus norvegicus somatostatin receptor 3 (Sstr3), mRNA [NM_133522]	1,31	1,27	1,04
Star	NM_031558	Rattus norvegicus steroidogenic acute regulatory protein (Star), mRNA [NM_031558]	2,00	3,25	7,45
Stxbp5l_predicted	XM_221424	PREDICTED: Rattus norvegicus syntaxin binding protein 5-like (predicted) (Stxbp5l_predicted), mRNA [XM_221424]	1,15	1,28	0,99
Sult1a1	NM_031834	Rattus norvegicus sulfotransferase family 1A, phenol-preferring, member 1 (Sult1a1), mRNA [NM_031834]	1,03	1,45	1,56
Sv2b	NM_057207	Rattus norvegicus synaptic vesicle glycoprotein 2b (Sv2b), mRNA [NM_057207]	2,96	3,25	1,33
Svs5	NM_133516	Rattus norvegicus seminal vesicle secretion 5 (Svs5), mRNA [NM_133516]	1,38	4,15	6,69
Taf9_ps	NM_001012463	Rattus norvegicus TAF9 RNA polymerase II, TATA box binding protein (TBP)-associated factor (Taf9), transcript variant 1, mRNA [NM_001012463]	1,38	1,35	0,91
TC518066	TC518066	Q9ERK2 (Q9ERK2) Neprilysin-like peptidase gamma, partial (3%) [TC518066]	0,93	1,32	1,22
TC520463	TC520463	Unknown	1,49	1,41	1,59
TC524696	TC524696	Q8G272 (Q8G272) Malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase, partial (7%) [TC524696]	1,47	1,57	1,71
TC524990	TC524990	Unknown	1,12	1,25	1,29
TC526483	TC526483	Unknown	1,10	1,24	1,26
TC526771	TC526771	Unknown	1,49	1,44	1,39
TC532273	TC532273	Q14886 (Q14886) Mucin (Fragment), partial (10%) [TC532273]	1,60	1,78	1,11
TC536099	TC536099	Q62710 (Q62710) Nitric oxide synthase, partial (34%) [TC536099]	1,07	1,22	1,17
TC536420	TC536420	Unknown	1,21	1,45	1,46
TC540001	TC540001	Unknown	1,26	1,27	1,07
TC544981	TC544981	Unknown	1,26	1,32	1,07
TC549054	TC549054	MUSPURNU2P purine nucleoside phosphorylase {Mus musculus;} , partial (15%) [TC549054]	0,98	1,24	1,62
TC550054	TC550054	Unknown	1,22	1,32	1,10
TC551725	TC551725	Q7QFG1 (Q7QFG1) AgCP13522 (Fragment), partial (3%) [TC551806]	0,83	1,33	1,41
TC552581	TC552581	Q8R1R5 (Q8R1R5) MIC2L1, partial (9%) [TC552581]	1,22	1,67	1,14
TC552694	TC552694	SH3L_MOUSE (Q9JUU8) SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein, complete [TC552694]	1,13	1,21	2,10
TC554551	TC554551	Unknown	1,11	1,53	2,55
TC566074	TC566074	Unknown	1,23	1,68	1,12
TC567098	TC567098	Q8YRD7 (Q8YRD7) Two-component sensor histidine kinase, partial (3%) [TC567098]	1,28	1,44	1,31
Timp1	NM_053819	Rattus norvegicus tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (Timp1), mRNA [NM_053819]	1,42	1,84	5,76
Timp2	NM_021989	Rattus norvegicus tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (Timp2), mRNA [NM_021989]	1,08	1,26	1,18
Tkt	NM_022592	Rattus norvegicus transketolase (Tkt), mRNA [NM_022592]	1,38	1,46	2,82
Tmem14a_predicted	XM_343546	PREDICTED: Rattus norvegicus transmembrane protein 14A (predicted) (Tmem14a_predicted), mRNA [XM_343546]	1,18	1,47	1,98
Txndc5_predicted	XM_225257	PREDICTED: Rattus norvegicus thioredoxin domain containing 5 (predicted) (Txndc5_predicted), mRNA [XM_225257]	1,07	1,32	2,14
U40628	U40628	Rattus norvegicus clone BB.1.4.1 unknown Glu-Pro dipeptide repeat protein mRNA, complete cds. [U40628]	1,52	2,20	1,26
Vcam1	NM_012889	Rattus norvegicus vascular cell adhesion molecule 1 (Vcam1), mRNA [NM_012889]	1,08	1,46	1,00
XM_213584	XM_213584	Rattus norvegicus similar to proline dehydrogenase; PRODH (LOC287950), mRNA [XM_213584]	1,14	1,34	1,11
XM_343856	XM_343856	PREDICTED: Rattus norvegicus LPS-induced TNF-alpha factor (Litaf), mRNA [XM_343856]	1,20	1,36	2,02
XM_344363	XM_344363	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA A430107P09 gene (LOC498507), mRNA [XM_344363]	0,77	1,24	1,07
XM_345562	XM_345562	Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (LOC366435), mRNA [XM_345562]	1,13	1,31	1,05
XM_346120	XM_346120	Rattus norvegicus similar to Liver carboxylesterase 1 precursor (Carboxylesterase ES-1) (E1) (ES-THE1) (LOC367389), mRNA [XM_346120]	1,22	1,56	1,27
XM_573954	XM_573954	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CG6004-PB (LOC498671), mRNA [XM_573954]	1,27	1,27	1,17
XM_574760	XM_574760	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to minichromosome maintenance protein 8 isoform 1 (LOC499437), mRNA [XM_574760]	1,19	1,44	1,43
XM_574850	XM_574850	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Phosphoglycerate kinase 1 (LOC499525), mRNA [XM_574850]	1,34	1,58	2,55
XM_575152	XM_575152	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC499812 (LOC499812), mRNA [XM_575152]	1,06	1,38	2,47
XM_575783	XM_575783	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CG12279-PA (LOC500420), mRNA [XM_575783]	1,39	1,74	2,61
XM_576039	XM_576039	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Glutathione S-transferase 8 (GST 8-8) (Chain 8) (GST class-alpha) (LOC500661), mRNA [XM_576039]	1,12	1,49	1,39
XM_576624	XM_576624	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 2610034M16Rik protein (LOC501196), mRNA [XM_576624]	0,94	1,35	1,09
Yc2	NM_001009920	Rattus norvegicus glutathione S-transferase Yc2 subunit (Yc2), mRNA [NM_001009920]	1,42	1,68	2,13
Zfyve21_predicted	XM_343115	PREDICTED: Rattus norvegicus zinc finger, FYVE domain containing 21 (predicted) (Zfyve21_predicted), mRNA [XM_343115]	1,35	1,53	1,60

2.4 Liste des transcrits sous-accumulés à 30 mg/kg/j

GeneName	SystematicName	Description	Ratio 6	Ratio 30	Ratio 150
A_44_P119153	A_44_P119153	Unknown	0,88	0,79	1,30
A_44_P403350	A_44_P403350	Unknown	0,84	0,78	0,86
A_44_P620950	A_44_P620950	Unknown	0,88	0,78	1,10
AA818205	AA818205	AA818205 UI-R-A0-ai-h-05-0-UI.s1 UI-R-A0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A0-ai-h-05-0-UI 3' similar to gb [AA818205]	0,81	0,60	0,81
AA848859	AA848859	AA848859 EST191620 Normalized rat lung, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RLUAH26 3' end, mRNA sequence [AA848859]	1,02	0,79	0,79
AA925693	AA925693	AA925693 UI-R-A1-ec-a-04-0-UI.s1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-ec-a-04-0-UI 3' similar to gi [AA925693]	0,83	0,77	1,03
Acp6_predicted	XM_215655	PREDICTED: Rattus norvegicus acid phosphatase 6, lysophosphatidic (predicted) (Acp6_predicted), mRNA [XM_215655]	0,81	0,76	0,91
Adam30_predicted	XM_227500	Rattus norvegicus similar to ADAM30 (LOC295309), mRNA [XM_227500]	0,83	0,80	0,95
AI102271	AI102271	AI102271 EST211560 Normalized rat brain, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RBRCB42 3' end, mRNA sequence [AI102271]	1,05	0,73	1,48
Ap3d_predicted	XM_234908	PREDICTED: Rattus norvegicus adaptor-related protein complex 3, delta subunit (predicted) (Ap3d_predicted), mRNA [XM_234908]	0,87	0,77	0,95
Apoc1	NM_012824	Rattus norvegicus apolipoprotein C-I (Apoc1), mRNA [NM_012824]	0,68	0,57	1,04
Apoe	NM_138828	Rattus norvegicus apolipoprotein E (Apoe), mRNA [NM_138828]	1,04	0,77	1,30
AW142122	AW142122	AW142122 EST292346 Normalized rat heart, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAG57 5' end similar to small nuclear ribonucleoprotein Sm D3, mRNA sequence [AW142122]	0,78	0,65	1,05
AW142122	AW142122	AW142122 EST292346 Normalized rat heart, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAG57 5' end similar to small nuclear ribonucleoprotein Sm D3, mRNA sequence [AW142122]	0,79	0,68	1,09
AW142122	AW142122	AW142122 EST292346 Normalized rat heart, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAG57 5' end similar to small nuclear ribonucleoprotein Sm D3, mRNA sequence [AW142122]	0,79	0,71	1,13
AW142122	AW142122	AW142122 EST292346 Normalized rat heart, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAG57 5' end similar to small nuclear ribonucleoprotein Sm D3, mRNA sequence [AW142122]	0,73	0,72	1,01
AW142122	AW142122	AW142122 EST292346 Normalized rat heart, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAG57 5' end similar to small nuclear ribonucleoprotein Sm D3, mRNA sequence [AW142122]	0,47	0,73	1,17
AW142122	AW142122	AW142122 EST292346 Normalized rat heart, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAG57 5' end similar to small nuclear ribonucleoprotein Sm D3, mRNA sequence [AW142122]	0,90	0,74	1,19
AW142122	AW142122	AW142122 EST292346 Normalized rat heart, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAG57 5' end similar to small nuclear ribonucleoprotein Sm D3, mRNA sequence [AW142122]	0,73	0,74	1,13
AW142122	AW142122	AW142122 EST292346 Normalized rat heart, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAG57 5' end similar to small nuclear ribonucleoprotein Sm D3, mRNA sequence [AW142122]	0,86	0,80	1,14
AW142611	AW142611	AW142611 EST292863 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAG64 5' end, mRNA sequence [AW142611]	0,92	0,81	1,12
AW918921	AW918921	AW918921 EST350225 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIFA36 5' end, mRNA sequence [AW918921]	0,95	0,81	0,70
BF289858	BF289858	BF289858 EST454449 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIHL42, mRNA sequence [BF289858]	0,76	0,76	1,29
BF419375	BF419375	BF419375 UI-R-BJ2-bqq-h-07-0-UI.s1 UI-R-BJ2 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ2-bqq-h-07-0-UI 3', mRNA sequence [BF419375]	1,10	0,81	1,03
BG381287	BG381287	BG381287 UI-R-CT0-bui-d-09-0-UI.s1 UI-R-CT0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CT0-bui-d-09-0-UI 3', mRNA sequence [BG381287]	0,89	0,75	0,92
BI277534	BI277534	UI-R-CY0-bxs-d-02-0-UI.s1 UI-R-CY0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CY0-bxs-d-02-0-UI 3', mRNA sequence [BI277534]	0,98	0,81	0,88
BI277534	BI277534	UI-R-CY0-bxs-d-02-0-UI.s1 UI-R-CY0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CY0-bxs-d-02-0-UI 3', mRNA sequence [BI277534]	0,83	0,81	0,89
BM386674	BM386674	BM386674 UI-R-CN1-cjg-n-05-0-UI.s1 UI-R-CN1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CN1-cjg-n-05-0-UI 3', mRNA sequence [BM386674]	0,85	0,81	1,05
CB581814	CB581814	AMGNNUC:NRHY5-00345-C9-A W Rat hypothalamus (10471) Rattus norvegicus cDNA clone nrhy5-00345-c9 5', mRNA sequence [CB581814]	0,90	0,83	1,04
Ccnk_predicted	XM_234516	Rattus norvegicus similar to Cyclin K (LOC314427), mRNA [XM_234516]	0,89	0,73	1,06
Cd226_predicted	XM_225664	PREDICTED: Rattus norvegicus CD226 antigen (predicted) (Cd226_predicted), mRNA [XM_225664]	0,93	0,72	0,83
Cd52	NM_053983	Rattus norvegicus CD52 antigen (Cd52), mRNA [NM_053983]	0,61	0,56	0,60
Cdkl3	NM_021772	Rattus norvegicus cyclin-dependent kinase-like 3 (Cdkl3), mRNA [NM_021772]	0,89	0,70	0,60
Chd11_predicted	XM_227510	PREDICTED: Rattus norvegicus chromodomain helicase DNA binding protein 1-like (predicted) (Chd11_predicted), mRNA [XM_227510]	0,86	0,78	0,85
CK471000	CK471000	AGENCOURT_17644530 NIH_MGC_237 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7115605 5', mRNA sequence [CK471000]	0,97	0,78	0,76
CK596364	CK596364	AGENCOURT_17837420 NIH_MGC_238 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7131533 5', mRNA sequence [CK596364]	1,33	0,82	0,67
Cog8_predicted	XM_214673	PREDICTED: Rattus norvegicus component of oligomeric golgi complex 8 (predicted) (Cog8_predicted), mRNA [XM_214673]	0,79	0,81	0,81
Cr16	NM_147211	Rattus norvegicus SH3 domain binding protein CR16 (Cr16), mRNA [NM_147211]	1,14	0,73	0,99
Ctrb	NM_012536	Rattus norvegicus Chymotrypsinogen B (Ctrb), mRNA [NM_012536]	0,72	0,82	0,55
D63163	D63163	Rattus sp. mRNA for cyclin C, partial cds. [D63163]	0,83	0,80	0,88
Egln2	NM_001004083	Rattus norvegicus EGL nine homolog 2 (C. elegans) (Egln2), mRNA [NM_001004083]	0,67	0,78	0,70

Eif2s2	NM_199380	Rattus norvegicus eukaryotic translation initiation factor 2, subunit 2 (beta) (Eif2s2), mRNA [NM_199380]	0,92	0,81	1,27
ENSRNOT00000030199	ENSRNOT00000030199	Unknown	0,94	0,76	0,70
ENSRNOT00000033438	ENSRNOT00000033438	Unknown	0,90	0,81	0,93
ENSRNOT00000040231	ENSRNOT00000040231	Unknown		0,66	0,64
Es2	NM_017004	Rattus norvegicus esterase 2 (Es2), mRNA [NM_017004]		0,57	0,49
Falz_predicted	XM_221050	PREDICTED: Rattus norvegicus fetal Alzheimer antigen (predicted) (Falz_predicted), mRNA [XM_221050]	1,03	0,80	1,04
Fcgr3	XM_573502	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Fc gamma (IgG) receptor II (low affinity) alpha precursor - rat (LOC498276), mRNA [XM_573502]	0,84	0,80	0,85
G0s2_predicted	NM_001009632	Rattus norvegicus G0/G1 switch gene 2 (predicted) (G0s2_predicted), mRNA [NM_001009632]	0,87	0,63	0,56
Grp58	NM_017319	Rattus norvegicus glucose regulated protein, 58 kDa (Grp58), mRNA [NM_017319]	0,84	0,82	0,89
Hspa11	NM_212546	Rattus norvegicus heat shock 70kD protein 1-like (Hspa11), mRNA [NM_212546]	0,92	0,83	0,90
Igfbp3	NM_012588	Rattus norvegicus insulin-like growth factor binding protein 3 (Igfbp3), mRNA [NM_012588]	0,88	0,44	0,52
Igfbp3	NM_012588	Rattus norvegicus insulin-like growth factor binding protein 3 (Igfbp3), mRNA [NM_012588]	0,89	0,56	0,64
Kcnd2	NM_031730	Rattus norvegicus potassium voltage gated channel, Shal-related family, member 2 (Kcnd2), mRNA [NM_031730]	1,15	0,75	0,93
Kcng2_predicted	XM_225718	PREDICTED: Rattus norvegicus potassium voltage-gated channel, subfamily G, member 2 (predicted) (Kcng2_predicted), mRNA [XM_225718]	0,85	0,70	0,89
Lgals1	NM_019904	Rattus norvegicus lectin, galactose binding, soluble 1 (Lgals1), mRNA [NM_019904]	0,81	0,63	0,68
LOC290877	XM_214392	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4933417N17 (LOC290877), mRNA [XM_214392]	0,62	0,34	0,35
LOC302075	XM_229637	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to serine/threonine kinase (LOC302075), mRNA [XM_229637]	0,98	0,74	0,53
LOC313760	XM_233707	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to KIAA1751 protein (LOC313760), mRNA [XM_233707]	0,78	0,73	0,86
LOC316318	XM_237047	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to TESP2 (LOC316318), mRNA [XM_237047]		0,70	0,75
LOC360485	XM_346882	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC360485 (LOC360485), mRNA [XM_346882]	0,91	0,80	0,94
LOC361076	XM_341358	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to diacylglycerol kinase eta (LOC361076), mRNA [XM_341358]	1,15	0,82	0,87
LOC361483	XM_341760	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Afadin (AF-6 protein) (LOC361483), mRNA [XM_341760]	0,92	0,80	0,87
LOC361877	XM_342171	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Single-stranded DNA-binding protein 2 (Sequence-specific single-stranded-DNA-binding protein 2) (LOC361877), mRNA [XM_342171]	1,01	0,81	0,89
LOC363432	XM_343754	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Afadin (AF-6 protein) (LOC363432), mRNA [XM_343754]	0,94	0,73	0,72
Lox1_predicted	NM_001012125	Rattus norvegicus lysyl oxidase-like 1 (predicted) (Lox1_predicted), mRNA [NM_001012125]	0,75	0,68	0,83
Lox1_predicted	NM_001012125	Rattus norvegicus lysyl oxidase-like 1 (predicted) (Lox1_predicted), mRNA [NM_001012125]	0,89	0,77	0,83
Ly86_predicted	XM_225636	PREDICTED: Rattus norvegicus lymphocyte antigen 86 (predicted) (Ly86_predicted), mRNA [XM_225636]	0,95	0,81	0,81
Lyn	NM_030857	Rattus norvegicus Yamaguchi sarcoma viral (v-yes-1) oncogene homolog (Lyn), mRNA [NM_030857]	0,89	0,77	0,71
Maml1_predicted	XM_220373	PREDICTED: Rattus norvegicus mastermind like 1 (Drosophila) (predicted) (Maml1_predicted), mRNA [XM_220373]	0,89	0,78	0,72
Matr3	NM_019149	Rattus norvegicus matrin 3 (Matr3), mRNA [NM_019149]	0,77	0,73	0,93
Nek7_predicted	XM_341127	PREDICTED: Rattus norvegicus NIMA (never in mitosis gene a)-related expressed kinase 7 (predicted) (Nek7_predicted), mRNA [XM_341127]	1,06	0,80	0,88
NM_001013902	NM_001013902	Rattus norvegicus hypothetical LOC293544 (predicted) (RGD1307822_predicted), mRNA [NM_001013902]	0,78	0,79	0,80
NM_001013915	NM_001013915	Rattus norvegicus taste receptor, type 2, member 134 (Tas2r134), mRNA [NM_001013915]	1,94	0,80	1,60
NM_001014255	NM_001014255	Rattus norvegicus similar to Aph1a-pending protein (predicted) (RGD1311546_predicted), mRNA [NM_001014255]	0,88	0,66	1,53
Npas1_predicted	XM_238770	PREDICTED: Rattus norvegicus neuronal PAS domain protein 1 (predicted) (Npas1_predicted), mRNA [XM_238770]	0,77	0,82	0,77
Pdap1	NM_022595	Rattus norvegicus PDGFA associated protein 1 (Pdap1), mRNA [NM_022595]	0,81	0,77	1,00
Pet112l_predicted	XM_342270	PREDICTED: Rattus norvegicus PET112-like (yeast) (predicted) (Pet112l_predicted), mRNA [XM_342270]	0,97	0,81	0,95
Pkhd111_predicted	XM_235248	Rattus norvegicus similar to fibrocystin L (LOC314917), mRNA [XM_235248]	0,84	0,65	0,89
Prkaa1	NM_019142	Rattus norvegicus protein kinase, AMP-activated, alpha 1 catalytic subunit (Prkaa1), mRNA [NM_019142]	0,98	0,80	0,88
Psm3	NM_017280	Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type 3 (Psm3), mRNA [NM_017280]	1,06	0,81	1,04
Ptpfr	NM_019249	Rattus norvegicus protein tyrosine phosphatase, receptor type, F (Ptpfr), mRNA [NM_019249]	0,96	0,81	1,38
Ramp1	NM_031645	Rattus norvegicus receptor (calcitonin) activity modifying protein 1 (Ramp1), mRNA [NM_031645]	0,87	0,82	0,41
RGD:1303089	NM_001004080	Rattus norvegicus gelsolin (Gsn), mRNA [NM_001004080]	0,85	0,69	0,55
RGD:1303159	NM_001004251	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ22555 (MGC94335), mRNA [NM_001004251]	0,88	0,81	1,24
RGD:727840	NM_183055	Rattus norvegicus cytochrome c oxidase subunit VIII isoform 3 (LOC360229), mRNA [NM_183055]	0,84	0,63	0,78
RGD:727882	NM_199083	Rattus norvegicus putative 28 kDa protein (LOC289809), mRNA [NM_199083]		0,79	0,70
RGD:735147	NM_198772	Rattus norvegicus Unknown (protein for MGC:72974) (MGC72974), mRNA [NM_198772]		0,52	0,54
RGD1304620_predicted	XM_222799	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to rab6 GTPase activating protein (GAP and centrosome-associated) (predicted) (LOC304914), mRNA [XM_222799]	0,86	0,81	0,88
RGD1305063_predicted	XM_220737	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Rab11-FIP4-like (predicted) (LOC303337), mRNA [XM_220737]	0,83	0,69	0,65
RGD1305781_predicted	XM_235378	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to mKIAA0431 protein (predicted) (LOC315037), mRNA [XM_235378]	0,98	0,80	0,74
RGD1306256_predicted	XM_341812	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ30373 (predicted) (LOC361528), mRNA [XM_341812]	0,93	0,62	0,56
RGD1306839_predicted	XM_215236	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 5033414D02 (LOC293888), mRNA [XM_215236]	0,86	0,76	0,89
RGD1309338_predicted	XM_235514	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC26816 (predicted) (LOC300097), mRNA [XM_235514]	0,83	0,79	0,88
RGD1309526_predicted	NM_001010966	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ20477 (predicted) (RGD1309526_predicted), mRNA [NM_001010966]		0,66	0,80

RGD1310191_predicted	XM_341102	Rattus norvegicus similar to Ab2-034 (LOC360829), mRNA [XM_341102]	1,05	0,73	1,03
Rgs2	NM_053453	Rattus norvegicus regulator of G-protein signaling 2 (Rgs2), mRNA [NM_053453]	0,98	0,72	0,94
RT1-Bb	NM_001004084	Rattus norvegicus RT1 class II, locus Bb (RT1-Bb), mRNA [NM_001004084]	1,32	0,69	2,43
Serping1	NM_199093	Rattus norvegicus serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade G, member 1 (Serping1), mRNA [NM_199093]	0,74	0,79	1,08
Sgca_predicted	XM_220884	PREDICTED: Rattus norvegicus sarcoglycan, alpha (dystrophin-associated glycoprotein) (predicted) (Sgca_predicted), mRNA [XM_220884]	0,91	0,68	0,52
Slc2a1	NM_138827	Rattus norvegicus solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 1 (Slc2a1), mRNA [NM_138827]	0,88	0,77	0,95
TC525497	TC525497	Unknown	0,62	0,51	0,74
TC525673	TC525673	Unknown	0,92	0,82	0,82
TC530262	TC530262	Unknown	0,72	0,83	0,78
TC532816	TC532816	Unknown	0,91	0,57	1,42
TC539990	TC539990	O63614 (O63614) ATP synthase subunit 8, partial (26%) [TC539990]	0,80	0,76	0,90
TC540088	TC540088	Unknown	0,67	0,80	0,78
TC545741	TC545741	Unknown	0,79	0,81	0,68
TC553976	TC553976	Unknown	0,75	0,81	0,97
TC556644	TC556644	Unknown	1,31	0,74	3,17
TC562876	TC562876	Unknown	0,56	0,50	0,65
Tgm1	NM_031659	Rattus norvegicus transglutaminase 1 (Tgm1), mRNA [NM_031659]	0,67	0,66	0,70
Thbd	NM_031771	Rattus norvegicus thrombomodulin (Thbd), mRNA [NM_031771]	0,62	0,47	0,66
Tmc5_predicted	NM_001012216	Rattus norvegicus transmembrane channel-like gene family 5 (predicted) (Tmc5_predicted), mRNA [NM_001012216]	0,81	0,58	0,80
Wfdc10a_predicted	XM_215918	Rattus norvegicus similar to WAP four-disulfide core domain 10A precursor; chromosome 20 open reading frame 146; protease inhibitor WAP10 precursor (LOC296363), mRNA [XM_215918]	0,92	0,82	1,09
XM_347194	XM_347194	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 0710008C12 (predicted) (LOC309453), mRNA [XM_347194]	0,78	0,76	0,90
XM_580199	XM_580199	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC501485 (LOC501485), mRNA [XM_580199]	0,98	0,81	0,91

2.5 Liste des transcrits sur-accumulés à 150 mg/kg/j

GeneName	SystematicName	Description	Ratio 6	Ratio 30	Ratio 150
A_44_P105213	A_44_P105213	Unknown	1,14	1,01	1,49
A_44_P105566	A_44_P105566	Unknown	1,13	1,24	1,99
A_44_P114892	A_44_P114892	Unknown	1,02	1,10	1,22
A_44_P206417	A_44_P206417	Unknown	1,14	1,00	1,29
A_44_P213139	A_44_P213139	Unknown	1,06	1,16	1,22
A_44_P213371	A_44_P213371	Unknown	1,14	1,25	1,39
A_44_P255965	A_44_P255965	Unknown	1,13	1,15	1,35
A_44_P316374	A_44_P316374	Unknown	1,09	1,24	1,29
A_44_P326124	A_44_P326124	Unknown	1,17	0,93	1,20
A_44_P431358	A_44_P431358	Unknown	0,94	1,09	1,49
A_44_P454861	A_44_P454861	Unknown	1,05	1,11	1,66
A_44_P461863	A_44_P461863	Unknown	1,24	1,24	1,27
A_44_P466474	A_44_P466474	Unknown	1,23	1,49	2,71
A_44_P470892	A_44_P470892	Unknown	1,16	1,26	1,28
A_44_P475804	A_44_P475804	Unknown	1,02	1,10	1,25
A_44_P490235	A_44_P490235	Unknown	1,15	1,10	1,33
A_44_P494696	A_44_P494696	Unknown	0,90	0,91	1,35
A_44_P503868	A_44_P503868	Unknown	1,06	1,03	1,20
A_44_P503868	A_44_P503868	Unknown	1,08	1,12	1,21
A_44_P503868	A_44_P503868	Unknown	0,98	1,08	1,24
A_44_P503868	A_44_P503868	Unknown	1,05	1,11	1,25

A_44_P503868	A_44_P503868	Unknown	1,01	1,10	1,26
A_44_P503868	A_44_P503868	Unknown	1,09	1,07	1,27
A_44_P522915	A_44_P522915	Unknown	1,16	0,98	1,23
A_44_P546267	A_44_P546267	Unknown	1,08	1,02	1,24
A_44_P606523	A_44_P606523	Unknown	1,34	1,17	1,53
A_44_P621230	A_44_P621230	Unknown	1,03	1,19	1,22
A_44_P667458	A_44_P667458	Unknown	1,05	1,05	1,27
A_44_P667768	A_44_P667768	Unknown	1,09	0,97	1,57
A_44_P698199	A_44_P698199	Unknown	1,02	1,02	1,51
A_44_P744264	A_44_P744264	Unknown	1,31	1,29	1,77
A_44_P744488	A_44_P744488	Unknown	1,09	1,14	1,30
A_44_P760225	A_44_P760225	Unknown	0,98	1,06	1,47
A_44_P760299	A_44_P760299	Unknown	1,01	0,95	1,20
A_44_P760628	A_44_P760628	Unknown	0,97	0,99	1,37
A_44_P790897	A_44_P790897	Unknown	1,18	1,15	1,42
A_44_P790941	A_44_P790941	Unknown	0,95	1,00	1,41
A_44_P806854	A_44_P806854	Unknown	0,96	1,09	1,46
A_44_P821613	A_44_P821613	Unknown	1,09	1,16	1,37
A_44_P867638	A_44_P867638	Unknown	0,95	0,94	1,26
A_44_P867828	A_44_P867828	Unknown	1,07	1,14	1,28
A_44_P899175	A_44_P899175	Unknown	1,25	1,29	1,48
A_44_P944227	A_44_P944227	Unknown	1,19	1,14	1,23
A_44_P944540	A_44_P944540	Unknown	1,00	1,10	1,38
A_44_P958935	A_44_P958935	Unknown	1,10	1,06	1,25
A_44_P959355	A_44_P959355	Unknown	1,06	1,00	1,28
A_44_P974665	A_44_P974665	Unknown	1,14	1,23	1,29
AA819702	AA819702	AA819702 UI-R-A0-an-h-12-0-UI.s1 UI-R-A0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A0-an-h-12-0-UI 3' similar to gb [AA819702]	1,12	1,32	1,61
AA850603	AA850603	AA850603 EST193371 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA 3' end, mRNA sequence [AA850603]	0,97	1,03	1,38
AA851099	AA851099	AA851099 EST193867 Normalized rat placenta, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RPLAA55 5' end, mRNA sequence [AA851099]	1,21	1,15	1,72
AA859224	AA859224	AA859224 UI-R-E0-cd-b-09-0-UI.s1 UI-R-E0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E0-cd-b-09-0-UI 3' similar to dbj [AA859224]	0,99	1,08	1,20
AA859982	AA859982	AA859982 UI-R-E0-ca-h-10-0-UI.s1 UI-R-E0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E0-ca-h-10-0-UI 3' similar to gb [AA859982]	1,20	1,10	1,26
AA900054	AA900054	AA900054 UI-R-E0-da-e-08-0-UI.s1 UI-R-E0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E0-da-e-08-0-UI 3' similar to gi [AA900054]	0,91	1,03	1,48
AA900845	AA900845	UI-R-E0-dk-a-01-0-UI.s1 UI-R-E0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E0-dk-a-01-0-UI 3' similar to gi [AA900845]	1,16	1,06	1,25
AA901342	AA901342	AA901342 UI-R-A1-dw-b-05-0-UI.s1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-dw-b-05-0-UI 3' similar to gi [AA901342]	1,03	1,23	1,38
AA925831	AA925831	AA925831 UI-R-A1-et-b-08-0-UI.s1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-et-b-08-0-UI 3' similar to gi [AA925831]	1,03	0,95	1,37
AA955478	AA955478	AA955478 UI-R-A1-ex-f-02-0-UI.s1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-ex-f-02-0-UI 3' similar to gi [AA955478]	0,99	1,07	1,23
AA963075	AA963075	AA963075 UI-R-E1-fx-a-09-0-UI.s1 UI-R-E1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E1-fx-a-09-0-UI 3', mRNA sequence [AA963075]	2,67	2,76	1,23
AA997406	AA997406	AA997406 UI-R-C0-hr-e-04-0-UI.s1 UI-R-C0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C0-hr-e-04-0-UI 3', mRNA sequence [AA997406]	1,07	0,83	1,55
AABR03006190	AABR03006190	Rattus norvegicus chromosome 1, 7 clones, strain BN/SsNHsdMCW RNOR03210214, whole genome shotgun sequence [AABR03006190]	1,05	1,03	1,59
Aacs	NM_023104	Rattus norvegicus acetoacetyl-CoA synthetase (Aacs), mRNA [NM_023104]	1,12	1,13	1,79
Abca3_predicted	XM_220219	Rattus norvegicus similar to ATP-binding cassette transporter ABCA3 (LOC302973), mRNA [XM_220219]	1,24	1,32	1,75
Abca8b_predicted	XM_221074	PREDICTED: Rattus norvegicus ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 8b (predicted) (Abca8b_predicted), mRNA [XM_221074]	1,06	1,19	1,43
Abcc5	NM_053924	Rattus norvegicus ATP-binding cassette, sub-family C (CFTR/MRP), member 5 (Abcc5), mRNA [NM_053924]	1,23	1,48	2,45
Abcd3	NM_012804	Rattus norvegicus ATP-binding cassette, sub-family D (ALD), member 3 (Abcd3), mRNA [NM_012804]	0,97	1,03	1,35
Acaa1	NM_012489	Rattus norvegicus acetyl-Coenzyme A acyltransferase 1 (peroxisomal 3-oxoacyl-Coenzyme A thiolase) (Acaa1), mRNA [NM_012489]	1,19	1,23	1,64
Acaa2	NM_130433	Rattus norvegicus acetyl-Coenzyme A acyltransferase 2 (mitochondrial 3-oxoacyl-Coenzyme A thiolase) (Acaa2), mRNA [NM_130433]	1,33	1,68	1,81
Acaa2	NM_130433	Rattus norvegicus acetyl-Coenzyme A acyltransferase 2 (mitochondrial 3-oxoacyl-Coenzyme A thiolase) (Acaa2), mRNA [NM_130433]	1,25	1,73	2,11
Acadl	NM_012819	Rattus norvegicus acetyl-Coenzyme A dehydrogenase, long-chain (Acadl), mRNA [NM_012819]	1,10	1,28	1,53
Acadm	NM_016986	Rattus norvegicus acetyl-coenzyme A dehydrogenase, medium chain (Acadm), mRNA [NM_016986]	1,42	1,46	1,60
Acads	NM_022512	Rattus norvegicus acyl-coenzyme A dehydrogenase, short chain (Acads), mRNA [NM_022512]	1,21	1,42	1,65
Acadvl	NM_012891	Rattus norvegicus acyl-Coenzyme A dehydrogenase, very long chain (Acadvl), mRNA [NM_012891]	0,96	1,24	1,23
Acadvl	NM_012891	Rattus norvegicus acyl-Coenzyme A dehydrogenase, very long chain (Acadvl), mRNA [NM_012891]	1,11	1,30	1,36
Acly	NM_016987	Rattus norvegicus ATP citrate lyase (Acly), mRNA [NM_016987]	1,28	1,53	2,24
Acox1	NM_017340	Rattus norvegicus acyl-Coenzyme A oxidase 1, palmitoyl (Acox1), mRNA [NM_017340]	1,21	1,20	1,57
Acp5	NM_019144	Rattus norvegicus acid phosphatase 5, tartrate resistant (Acp5), mRNA [NM_019144]	0,94	1,00	1,40

AcsI4	NM_053623	Rattus norvegicus acyl-CoA synthetase long-chain family member 4 (AcsI4), mRNA [NM_053623]	1,59	1,22	1,25
Adcy6	L01115	Rattus norvegicus adenyl cyclase type VI mRNA, complete cds. [L01115]	1,04	1,00	1,25
Adcy9_predicted	XM_220178	PREDICTED: Rattus norvegicus adenylate cyclase 9 (predicted) (Adcy9_predicted), mRNA [XM_220178]	1,49	1,22	1,47
Aga_predicted	XM_214403	PREDICTED: Rattus norvegicus aspartylglucosaminidase (predicted) (Aga_predicted), mRNA [XM_214403]	1,09	1,21	1,41
Agpat4	NM_133406	Rattus norvegicus 1-acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase 4 (Agpat4), mRNA [NM_133406]	1,16	1,14	1,28
AI012328	AI012328	AI012328 EST206779 Normalized rat placenta, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RPLAV71 3' end, mRNA sequence [AI012328]	0,90	1,04	1,29
AI013204	AI013204	AI013204 EST207879 Normalized rat spleen, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RSPBI06 3' end, mRNA sequence [AI013204]	0,98	1,01	1,37
AI102738	AI102738	AI102738 EST212027 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone REMBR90 3' end, mRNA sequence [AI102738]	0,98	0,96	1,40
AI170501	AI170501	AI170501 EST216429 Normalized rat lung, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RLUCO50 3' end, mRNA sequence [AI170501]	0,84	1,27	1,26
AI171355	AI171355	AI171355 EST217310 Normalized rat muscle, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RMUBJ63 3' end, mRNA sequence [AI171355]	0,94	1,29	1,28
AI179448	AI179448	AI179448 EST223160 Normalized rat spleen, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RSPCH50 3' end, mRNA sequence [AI179448]	0,96	0,92	1,23
AI228397	AI228397	AI228397 EST225092 Normalized rat brain, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RBRCU20 3' end, mRNA sequence [AI228397]	0,96	0,89	1,30
AI235446	AI235446	AI235446 EST232008 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone ROVCR88 3' end, mRNA sequence [AI235446]	1,11	1,53	1,26
AI411753	AI411753	AI411753 EST240047 Normalized rat placenta, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RPLDJ16 3' end, mRNA sequence [AI411753]	1,29	1,29	1,66
AJ003232	AJ003232	RNAJ3232 Rattus norvegicus mRNA for MHC class II RT1-D beta1 chain haplotype k [AJ003232]	1,31	0,81	1,57
Ak3	NM_013218	Rattus norvegicus adenylate kinase 3 (Ak3), mRNA [NM_013218]	0,91	1,32	1,94
Ak3	NM_013218	Rattus norvegicus adenylate kinase 3 (Ak3), mRNA [NM_013218]	1,16	1,25	1,96
Akr1b8	NM_173136	Rattus norvegicus aldo-keto reductase family 1, member B8 (Akr1b8), mRNA [NM_173136]	1,52	1,46	4,19
Alad	NM_012899	Rattus norvegicus aminolevulinate, delta-, dehydratase (Alad), mRNA [NM_012899]	0,97	1,26	1,64
Alas1	NM_024484	Rattus norvegicus aminolevulinic acid synthase 1 (Alas1), mRNA [NM_024484]	1,19	1,47	2,88
Aldh1a1	NM_022407	Rattus norvegicus aldehyde dehydrogenase family 1, member A1 (Aldh1a1), mRNA [NM_022407]	1,55	1,93	2,20
Aldh2	NM_032416	Rattus norvegicus aldehyde dehydrogenase 2 (Aldh2), mRNA [NM_032416]	1,20	1,12	1,30
Aldh7a1_predicted	XM_214535	PREDICTED: Rattus norvegicus aldehyde dehydrogenase family 7, member A1 (predicted) (Aldh7a1_predicted), mRNA [XM_214535]	1,22	1,30	1,51
Anp32b	NM_131911	Rattus norvegicus acidic nuclear phosphoprotein 32 family, member B (Anp32b), mRNA [NM_131911]	0,95	0,88	1,29
Anxa3	NM_012823	Rattus norvegicus annexin A3 (Anxa3), mRNA [NM_012823]	0,94	1,14	1,38
Anxa6	NM_024156	Rattus norvegicus annexin A6 (Anxa6), mRNA [NM_024156]	1,06	1,13	1,26
Anxa7	NM_130416	Rattus norvegicus annexin A7 (Anxa7), mRNA [NM_130416]	1,17	1,14	1,34
Aox1	NM_019363	Rattus norvegicus aldehyde oxidase 1 (Aox1), mRNA [NM_019363]	0,98	1,10	1,84
ApoE	NM_138828	Rattus norvegicus apolipoprotein E (ApoE), mRNA [NM_138828]	1,04	0,77	1,30
App	NM_019288	Rattus norvegicus amyloid beta (A4) precursor protein (App), mRNA [NM_019288]	1,00	1,31	1,85
Aprin_predicted	XM_221833	PREDICTED: Rattus norvegicus androgen-induced proliferation inhibitor (predicted) (Aprin_predicted), mRNA [XM_221833]	1,03	1,12	1,33
Aqp9	NM_022960	Rattus norvegicus aquaporin 9 (Aqp9), mRNA [NM_022960]	1,18	1,46	1,39
Aqr_predicted	XM_345418	PREDICTED: Rattus norvegicus aquarius (predicted) (Aqr_predicted), mRNA [XM_345418]	1,04	1,00	1,21
Arts1	NM_030836	Rattus norvegicus type 1 tumor necrosis factor receptor shedding aminopeptidase regulator (Arts1), mRNA [NM_030836]	1,13	1,25	1,86
Ass	NM_013157	Rattus norvegicus arginosuccinate synthetase (Ass), mRNA [NM_013157]	1,41	1,86	2,12
Atf4	NM_024403	Rattus norvegicus activating transcription factor 4 (Atf4), mRNA [NM_024403]	1,00	1,06	1,24
Atp2b3	XM_343839	PREDICTED: Rattus norvegicus ATPase, Ca++ transporting, plasma membrane 3 (Atp2b3), mRNA [XM_343839]	1,64	1,92	3,71
Atp5g1	NM_017311	Rattus norvegicus ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit c (subunit 9), isoform 1 (Atp5g1), mRNA [NM_017311]	1,13	1,24	1,46
Atp5g2	NM_133556	Rattus norvegicus ATP synthase, H+ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit c (subunit 9), isoform 2 (Atp5g2), mRNA [NM_133556]	0,84	0,95	1,23
Atp6ap1	NM_031785	Rattus norvegicus ATPase, H+ transporting, lysosomal (vacuolar proton pump), subunit 1 (Atp6ap1), mRNA [NM_031785]	1,02	1,20	1,43
AW140761	AW140761	AW140761 EST290756 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIQAQ58 5' end similar to factor VIII intron 22 protein, mRNA sequence [AW140761]	1,00	1,08	1,26
AW141280	AW141280	AW141280 EST291321 Normalized rat brain, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBK28 5' end similar to RP58 (transcriptional repressor), mRNA sequence [AW141280]	1,10	0,93	1,69
AW141791	AW141791	AW141791 EST291884 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICG77 5' end similar to NAD-dependent methylenetetrahydrofolate dehydrogenase, mRNA sequence [AW141791]	1,06	1,39	1,67
AW142434	AW142434	AW142434 EST292686 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAL65 5' end, mRNA sequence [AW142434]	1,03	1,07	1,23
AW143153	AW143153	AW143153 EST293449 Normalized rat brain, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBE60 5' end, mRNA sequence [AW143153]	1,33	1,44	1,85
AW143282	AW143282	AW143282 EST293578 Normalized rat brain, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBJ40 5' end, mRNA sequence [AW143282]	1,15	1,34	1,23
AW143357	AW143357	AW143357 EST293653 Normalized rat brain, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBL53 5' end, mRNA sequence [AW143357]	1,16	1,13	1,31
AW143783	AW143783	AW143783 EST294079 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICA18 5' end, mRNA sequence [AW143783]	1,72	1,17	1,65
AW144408	AW144408	AW144408 EST294704 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICR81 5' end, mRNA sequence [AW144408]	0,91	1,16	1,45
AW144530	AW144530	AW144530 EST294907 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIJU11 5' end, mRNA sequence [AW144530]	0,88	1,06	1,23
AW144721	AW144721	AW144721 EST290815 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAS11 5' end similar to nuclear matrix protein NRP/B, mRNA sequence [AW144721]	1,23	0,94	1,21

AW144774	AW144774	AW144774 EST291660 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICA60 5' end similar to beta-catenin, mRNA sequence [AW144774]	1,08	1,16	1,31
AW527797	AW527797	AW527797 UI-R-BT1-ajy-h-04-0-UI.s1 UI-R-BT1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BT1-ajy-h-04-0-UI 3', mRNA sequence [AW527797]	0,89	1,30	2,19
AW914006	AW914006	AW914006 EST294784 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIZA67 5' end, mRNA sequence [AW914006]	1,15	1,32	1,60
AW914778	AW914778	AW914778 EST346082 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBH22 5' end, mRNA sequence [AW914778]	1,09	1,00	1,25
AW914778	AW914778	AW914778 EST346082 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBH22 5' end, mRNA sequence [AW914778]	1,01	0,96	1,29
AW914778	AW914778	AW914778 EST346082 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBH22 5' end, mRNA sequence [AW914778]	1,15	1,15	1,30
AW915320	AW915320	AW915320 EST346624 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICU04 5' end, mRNA sequence [AW915320]	1,06	1,05	1,26
AW915389	AW915389	AW915389 EST346693 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICU85 5' end, mRNA sequence [AW915389]	1,03	1,15	1,52
AW915558	AW915558	AW915558 EST346862 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICW74 5' end, mRNA sequence [AW915558]	1,11	1,06	1,30
AW915764	AW915764	AW915764 EST347068 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIDA44 5' end, mRNA sequence [AW915764]	1,30	1,51	1,76
AW915838	AW915838	AW915838 EST347142 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIDB37 5' end, mRNA sequence [AW915838]	1,19	1,34	1,28
AW916440	AW916440	AW916440 EST347744 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIDQ18 5' end, mRNA sequence [AW916440]	1,08	1,23	1,52
AW916786	AW916786	AW916786 EST348194 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIDW27 5' end, mRNA sequence [AW916786]	0,81	0,99	1,40
AW917472	AW917472	AW917472 EST348776 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEE28 5' end, mRNA sequence [AW917472]	1,06	0,93	1,26
AW917507	AW917507	AW917507 EST348811 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEE69 5' end, mRNA sequence [AW917507]	1,08	1,15	1,49
AW917548	AW917548	AW917548 EST348852 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEF18 5' end, mRNA sequence [AW917548]	1,22	1,35	1,44
AW917571	AW917571	AW917571 EST348875 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEF45 5' end, mRNA sequence [AW917571]	1,02	0,92	1,40
AW917986	AW917986	AW917986 EST349290 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEK88 5' end, mRNA sequence [AW917986]	1,06	1,07	1,41
AW918060	AW918060	AW918060 EST349364 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEL72 5' end, mRNA sequence [AW918060]	1,04	1,18	1,72
AW918202	AW918202	AW918202 EST349506 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEH76 5' end, mRNA sequence [AW918202]	1,14	1,15	1,54
AW918387	AW918387	AW918387 EST349691 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIER58 5' end, mRNA sequence [AW918387]	1,03	0,95	1,42
AW918978	AW918978	AW918978 EST350282 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIFB20 5' end, mRNA sequence [AW918978]	1,03	0,96	1,25
AW919130	AW919130	AW919130 EST350434 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIFD19 5' end, mRNA sequence [AW919130]	1,03	1,08	2,07
AW920832	AW920832	AW920832 EST352136 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIHD35 5' end, mRNA sequence [AW920832]	1,11	0,86	1,23
AW921042	AW921042	AW921042 EST352346 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIHM65 5' end, mRNA sequence [AW921042]	1,02	1,03	1,51
AW921183	AW921183	AW921183 EST352487 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIHP36 5' end, mRNA sequence [AW921183]	1,09	1,08	1,51
AW921430	AW921430	AW921430 EST352734 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIHT75 5' end, mRNA sequence [AW921430]	1,23	1,14	1,39
AW921546	AW921546	AW921546 EST352850 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIIA63 5' end, mRNA sequence [AW921546]	1,01	0,98	1,30
AY011335	AY011335	Rattus norvegicus amyloid beta precursor protein (App) gene, partial cds [AY011335]	1,10	1,39	2,25
AY053517	AY053517	Rattus norvegicus unknown sequence. [AY053517]	1,08	1,13	1,50
AY325157	AY325157	Rattus norvegicus Ab1-331 mRNA, complete cds. [AY325157]	1,09	1,16	1,55
B2m	CF111193	Shultzomica04444 Rat lung airway and parenchyma cDNA libraries Rattus norvegicus cDNA clone Contig3937 5', mRNA sequence [CF111193]	1,19	1,18	1,41
B2m	CF111193	Shultzomica04444 Rat lung airway and parenchyma cDNA libraries Rattus norvegicus cDNA clone Contig3937 5', mRNA sequence [CF111193]	1,15	1,18	1,49
B2m	NM_012512	Rattus norvegicus beta-2 microglobulin (B2m), mRNA [NM_012512]	1,04	0,98	1,67
B2m	NM_012512	Rattus norvegicus beta-2 microglobulin (B2m), mRNA [NM_012512]	1,02	1,13	1,75
BC090353	BC090353	Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7313591. [BC090353]	1,28	1,29	1,36
BC091425	BC091425	Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7366335. [BC091425]	1,03	1,28	1,65

Bckdha	XM_341805	PREDICTED: Rattus norvegicus branched chain ketoacid dehydrogenase E1, alpha polypeptide (Bckdha), mRNA [XM_341805]	1,12	1,10	1,29
Bckdhb	XM_343439	PREDICTED: Rattus norvegicus branched chain keto acid dehydrogenase E1, beta polypeptide (Bckdhb), mRNA [XM_343439]	0,98	1,03	1,30
Bcl2l2	NM_021850	Rattus norvegicus Bcl2-like 2 (Bcl2l2), mRNA [NM_021850]	1,10	1,32	1,56
Bdh	NM_053995	Rattus norvegicus 3-hydroxybutyrate dehydrogenase (heart, mitochondrial) (Bdh), nuclear gene encoding mitochondrial protein, mRNA [NM_053995]	0,94	0,94	1,27
BE117007	BE117007	BE117007 UI-R-BS1-ayl-g-05-0-UI.s1 UI-R-BS1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BS1-ayl-g-05-0-UI 3', mRNA sequence [BE117007]	0,89	0,98	1,33
BF282429	BF282429	BF282429 EST446932 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIDM44 3' sequence, mRNA sequence [BF282429]	1,14	1,42	1,62
BF289184	BF289184	BF289184 EST453775 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIHC06, mRNA sequence [BF289184]	1,01	1,25	1,66
BF289650	BF289650	BF289650 EST454241 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIHJ43, mRNA sequence [BF289650]	1,39	1,54	3,15
BF290512	BF290512	BF290512 EST455103 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIHW28 5' sequence, mRNA sequence [BF290512]	0,98	0,78	1,43
BF403483	BF403483	BF403483 UI-R-CA1-biz-d-10-0-UI.s1 UI-R-CA1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CA1-biz-d-10-0-UI 3', mRNA sequence [BF403483]	1,10	1,15	1,36
BF548067	BF548067	BF548067 UI-R-A0-ad-f-05-0-UI.r1 UI-R-A0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A0-ad-f-05-0-UI 5', mRNA sequence [BF548067]	1,18	1,29	2,19
BF548544	BF548544	BF548544 UI-R-A0-at-f-02-0-UI.r1 UI-R-A0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A0-at-f-02-0-UI 5', mRNA sequence [BF548544]	1,09	0,98	1,33
BF550045	BF550045	BF550045 UI-R-E0-cp-h-06-0-UI.r1 UI-R-E0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E0-cp-h-06-0-UI 5', mRNA sequence [BF550045]	0,88	1,41	1,91
BF552305	BF552305	BF552305 UI-R-C1-lq-b-06-0-UI.r1 UI-R-C1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C1-lq-b-06-0-UI 5', mRNA sequence [BF552305]	0,99	1,13	1,25
BF558512	BF558512	BF558512 UI-R-C1-ld-d-04-0-UI.r1 UI-R-C1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C1-ld-d-04-0-UI 5', mRNA sequence [BF558512]	1,24	1,29	1,82
BF561540	BF561540	BF561540 UI-R-C0-hx-a-06-0-UI.r1 UI-R-C0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C0-hx-a-06-0-UI 5', mRNA sequence [BF561540]	0,87	0,92	1,23
BF564888	BF564888	BF564888 UI-R-BU0-amz-g-01-0-UI.r1 UI-R-BU0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BU0-amz-g-01-0-UI 5', mRNA sequence [BF564888]	1,20	1,48	1,93
BF567489	BF567489	UI-R-BO0-aib-a-09-0-UI.r1 UI-R-BO0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BO0-aib-a-09-0-UI 5', mRNA sequence [BF567489]	1,85	1,85	2,26
BG372726	BG372726	UI-R-CV1-brz-g-08-0-UI.s1 UI-R-CV1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CV1-brz-g-08-0-UI 3', mRNA sequence [BG372726]	1,03	0,96	1,23
BG374711	BG374711	BG374711 UI-R-CV1-bsq-e-05-0-UI.s1 UI-R-CV1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CV1-bsq-e-05-0-UI 3', mRNA sequence [BG374711]	0,92	0,99	1,39
BG663067	BG663067	BG663067 DRA07G07 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRA07G07 5', mRNA sequence [BG663067]	1,04	1,72	1,99
BG663343	BG663343	BG663343 DRAAAHC06 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRAAAHC06 5', mRNA sequence [BG663343]	0,99	1,04	1,57
BG666368	BG666368	BG666368 DRACHF07 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRACHF07 5', mRNA sequence [BG666368]	1,15	1,17	1,27
BG666843	BG666843	BG666843 DRACNC05 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRACNC05 5', mRNA sequence [BG666843]	1,05	1,01	1,60
BG667119	BG667119	BG667119 DRACRC11 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRACRC11 5', mRNA sequence [BG667119]	1,01	1,01	1,42
BG671331	BG671331	BG671331 DRNBPB03 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRNBPB03 5', mRNA sequence [BG671331]	1,16	1,30	1,51
Bgn	NM_017087	Rattus norvegicus biglycan (Bgn), mRNA [NM_017087]	1,20	0,97	1,53
BI395434	BI395434	BI395434 EST531301 Rat gene index, normalized rat, norvegicus Rattus norvegicus cDNA clone RGIAL83 5' end, mRNA sequence [BI395434]	1,02	1,27	1,55
BM388896	BM388896	BM388896 UI-R-DZ0-ckn-b-09-0-UI.s1 NCI_CGAP_DZ0 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7337867 3', mRNA sequence [BM388896]	1,09	1,14	1,23
BQ205131	BQ205131	BQ205131 UI-R-DZ1-cnh-f-09-0-UI.s1 NCI_CGAP_DZ1 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7345643 3', mRNA sequence [BQ205131]	1,07	1,28	1,69
BQ208238	BQ208238	UI-R-EP0-coa-l-12-0-UI.s1 UI-R-EP0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-EP0-coa-l-12-0-UI 3', mRNA sequence [BQ208238]	0,98	1,09	1,22
BQ211845	BQ211845	UI-R-DY1-col-m-21-0-UI.s1 UI-R-DY1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-DY1-col-m-21-0-UI 3', mRNA sequence [BQ211845]	1,39	1,38	1,36
BQ782805	BQ782805	BQ782805 UI-R-FF0-cpl-i-20-0-UI.s1 NCI_CGAP_FF0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-FF0-cpl-i-20-0-UI 3', mRNA sequence [BQ782805]	0,89	1,10	1,21
Brp16	NM_001007707	Rattus norvegicus brain protein 16 (Brp16), mRNA [NM_001007707]	1,08	1,10	1,23
Bst2	NM_198134	Rattus norvegicus bone marrow stromal cell antigen 2 (Bst2), mRNA [NM_198134]	0,92	0,84	1,26
Bst2	NM_198134	Rattus norvegicus bone marrow stromal cell antigen 2 (Bst2), mRNA [NM_198134]	0,86	0,89	2,08
BX883045	BX883045	Rattus norvegicus chromosome 20, major histocompatibility complex, assembled from 40 BACs, strain Brown Norway (BN/ssNHsd), RT1n haplotype; segment 4/11 [BX883045]	1,08	1,42	2,20
C1qbp	NM_019259	Rattus norvegicus complement component 1, q subcomponent binding protein (C1qbp), mRNA [NM_019259]	0,85	0,94	1,54
Ca2	NM_019291	Rattus norvegicus carbonic anhydrase 2 (Ca2), mRNA [NM_019291]	0,99	1,03	1,47
CA506387	CA506387	CA506387 UI-R-FJ0-cqb-k-24-0-UI.s1 UI-R-FJ0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-FJ0-cqb-k-24-0-UI 3', mRNA sequence [CA506387]	0,99	1,12	1,24
Calm3	NM_012518	Rattus norvegicus calmodulin 3 (Calm3), mRNA [NM_012518]	0,88	0,95	1,22
Catns_predicted	XM_242062	PREDICTED: Rattus norvegicus catenin src (predicted) (Catns_predicted), mRNA [XM_242062]	0,88	1,02	1,82
CB544480	CB544480	CB544480 AMGNNUC:NRPC1-00001-G2-A nrpc1 (10212) Rattus norvegicus cDNA clone nrpc1-00001-g2 5', mRNA sequence [CB544480]	1,50	0,97	1,32
Cbr1	NM_019170	Rattus norvegicus carbonyl reductase 1 (Cbr1), mRNA [NM_019170]	1,15	1,14	1,27
Cbr1	NM_019170	Rattus norvegicus carbonyl reductase 1 (Cbr1), mRNA [NM_019170]	1,28	1,22	1,43
Ccng1	NM_012923	Rattus norvegicus cyclin G1 (Ccng1), mRNA [NM_012923]	0,85	0,93	1,47
Ccng1	NM_012923	Rattus norvegicus cyclin G1 (Ccng1), mRNA [NM_012923]	1,24	1,01	1,74
Cd36	NM_031561	Rattus norvegicus cd36 antigen (Cd36), mRNA [NM_031561]	1,22	1,96	2,70
Cd47	NM_019195	Rattus norvegicus CD47 antigen (Rh-related antigen, integrin-associated signal transducer) (Cd47), mRNA [NM_019195]	1,21	1,13	1,51
Cd81	NM_013087	Rattus norvegicus CD 81 antigen (Cd81), mRNA [NM_013087]	1,14	1,46	1,45

Cdw92	AJ420809	Rattus norvegicus mRNA for choline transporter-like protein 1, splice variant a (CTL1a gene). [AJ420809]	1,02	0,88	1,27
Ces3	NM_133295	Rattus norvegicus carboxylesterase 3 (Ces3), mRNA [NM_133295]	1,15	1,41	1,93
Chordc1_predicted	XM_235878	PREDICTED: Rattus norvegicus cysteine and histidine-rich domain (CHORD)-containing, zinc-binding protein 1 (predicted) (Chordc1_predicted), mRNA [XM_235878]	0,83	1,07	1,30
Cml1	NM_133558	Rattus norvegicus camello-like 1 (Cml1), mRNA [NM_133558]	1,09	1,03	1,32
Cml5	AF187100	Rattus norvegicus putative N-acetyltransferase CML5 (Cml5) mRNA, partial cds. [AF187100]	1,02	1,40	3,72
Cnih_predicted	XM_214153	PREDICTED: Rattus norvegicus cornichon homolog (Drosophila) (predicted) (Cnih_predicted), mRNA [XM_214153]	1,06	0,89	1,54
Cnn3	NM_019359	Rattus norvegicus calponin 3, acidic (Cnn3), mRNA [NM_019359]	1,01	1,12	1,55
Col18a1	XM_241632	PREDICTED: Rattus norvegicus collagen, type XVIII, alpha 1 (Col18a1), mRNA [XM_241632]	0,97	0,90	1,42
Col18a1	XM_241632	PREDICTED: Rattus norvegicus collagen, type XVIII, alpha 1 (Col18a1), mRNA [XM_241632]	0,78	1,03	1,96
Col5a2	AJ224880	Rattus norvegicus mRNA for collagen alpha 2 type V, partial CDS. [AJ224880]	1,05	0,93	1,32
Col5a2	XM_343564	Rattus norvegicus collagen, type V, alpha 2 (Col5a2), mRNA [XM_343564]	1,12	1,01	1,43
Commd1_predicted	XM_214110	Rattus norvegicus similar to MURR1 (LOC289831), mRNA [XM_214110]	1,01	1,08	1,26
Comtd1_predicted	XM_223785	PREDICTED: Rattus norvegicus catechol-O-methyltransferase domain containing 1 (predicted) (Comtd1_predicted), mRNA [XM_223785]	1,23	1,32	1,76
Cox6a1	XM_341094	PREDICTED: Rattus norvegicus cytochrome c oxidase, subunit VIa, polypeptide 1 (Cox6a1), mRNA [XM_341094]	0,90	0,88	1,24
Cox7b	NM_182819	Rattus norvegicus cytochrome c oxidase subunit VIIb (Cox7b), mRNA [NM_182819]	1,05	1,54	1,96
Crot	NM_031987	Rattus norvegicus carnitine O-octanoyltransferase (Crot), mRNA [NM_031987]	1,71	2,15	2,15
Crry	NM_001005330	Rattus norvegicus complement receptor related protein (Crry), transcript variant 1, mRNA [NM_001005330]	1,02	1,24	1,68
Ctsb	NM_022597	Rattus norvegicus cathepsin B (Ctsb), mRNA [NM_022597]	1,38	1,52	2,32
Ctsd	NM_134334	Rattus norvegicus cathepsin D (Ctsd), mRNA [NM_134334]	1,20	1,39	2,07
Ctsh	NM_012939	Rattus norvegicus cathepsin H (Ctsh), mRNA [NM_012939]	1,65	2,05	2,11
Ctnn	BC081802	Rattus norvegicus cortactin isoform B, mRNA (cDNA clone MGC:93456 IMAGE:7107292), complete cds [BC081802]	1,07	1,03	1,41
Cx3cl1	NM_134455	Rattus norvegicus chemokine (C-X3-C motif) ligand 1 (Cx3cl1), mRNA [NM_134455]	0,86	1,00	1,28
Cyb5	NM_022245	Rattus norvegicus cytochrome b-5 (Cyb5), mRNA [NM_022245]	1,00	1,18	1,46
Cyp11a1	NM_017286	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 11, subfamily a, polypeptide 1 (Cyp11a1), mRNA [NM_017286]	2,39	3,30	3,60
Cyp17a1	NM_012753	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 17, subfamily a, polypeptide 1 (Cyp17a1), mRNA [NM_012753]	2,48	3,93	8,18
Cyp1b1	NM_012940	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 1, subfamily b, polypeptide 1 (Cyp1b1), mRNA [NM_012940]	1,54	1,86	2,89
D1bwg1363e	NM_001005906	Rattus norvegicus chondroitin polymerizing factor (D1bwg1363e), mRNA [NM_001005906]	0,91	0,98	1,27
Dag1	XM_343483	PREDICTED: Rattus norvegicus dystroglycan 1 (Dag1), mRNA [XM_343483]	0,95	0,80	1,34
Dapp1_predicted	XM_342348	PREDICTED: Rattus norvegicus dual adaptor for phosphotyrosine and 3-phosphoinositides 1 (predicted) (Dapp1_predicted), mRNA [XM_342348]	1,13	1,06	1,22
Dbi	NM_031853	Rattus norvegicus diazepam binding inhibitor (Dbi), mRNA [NM_031853]	1,01	1,15	1,34
Dbp	NM_012543	Rattus norvegicus D site albumin promoter binding protein (Dbp), mRNA [NM_012543]	0,94	1,20	2,11
Dci	NM_017306	Rattus norvegicus dodecenoyl-coenzyme A delta isomerase (Dci), mRNA [NM_017306]	1,16	1,38	1,60
Ddc	NM_012545	Rattus norvegicus dopa decarboxylase (Ddc), mRNA [NM_012545]	1,27	1,67	1,73
Decr1	NM_057197	Rattus norvegicus 2,4-dienoyl CoA reductase 1, mitochondrial (Decr1), mRNA [NM_057197]	1,35	1,50	2,19
Dhcr7	NM_022389	Rattus norvegicus 7-dehydrocholesterol reductase (Dhcr7), mRNA [NM_022389]	1,13	1,47	2,78
Dhrs4	NM_153315	Rattus norvegicus dehydrogenase/reductase (SDR family) member 4 (Dhrs4), mRNA [NM_153315]	1,72	1,61	1,24
Dia1	NM_138877	Rattus norvegicus diaphorase 1 (Dia1), mRNA [NM_138877]	1,01	0,99	1,44
Dirc2_predicted	NM_001012017	Rattus norvegicus disrupted in renal carcinoma 2 (predicted) (Dirc2_predicted), mRNA [NM_001012017]	1,17	1,12	1,31
Dkc1	NM_133419	Rattus norvegicus dyskeratosis congenita 1, dyskerin (Dkc1), mRNA [NM_133419]	0,99	1,04	1,22
Dp1_predicted	XM_344661	PREDICTED: Rattus norvegicus deleted in polyposis 1 (predicted) (Dp1_predicted), mRNA [XM_344661]	1,40	1,62	1,87
Dpt_predicted	XM_213925	PREDICTED: Rattus norvegicus dermatopontin (predicted) (Dpt_predicted), mRNA [XM_213925]	1,79	1,84	2,91
Dsipi	NM_031345	Rattus norvegicus delta sleep inducing peptide, immunoreactor (Dsipi), mRNA [NM_031345]	0,94	0,96	1,56
Ebp	NM_057137	Rattus norvegicus phenylalkylamine Ca2+ antagonist (emopamil) binding protein (Ebp), mRNA [NM_057137]	1,24	2,08	2,30
Ece1	NM_053596	Rattus norvegicus endothelin converting enzyme 1 (Ece1), mRNA [NM_053596]	0,95	1,03	1,60
Echs1	NM_078623	Rattus norvegicus enoyl Coenzyme A hydratase, short chain, 1, mitochondrial (Echs1), mRNA [NM_078623]	1,33	1,51	2,24
Efs_predicted	XM_237944	Rattus norvegicus similar to embryonal Fyn-associated substrate (LOC290212), mRNA [XM_237944]	0,85	0,96	1,22
Eif3s10_predicted	NM_238649	PREDICTED: Rattus norvegicus eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 10 (theta) (predicted) (Eif3s10_predicted), mRNA [XM_238649]	1,23	1,16	1,35
Eif4ebp1	NM_053857	Rattus norvegicus eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1 (Eif4ebp1), mRNA [NM_053857]	0,99	1,02	1,90
Elov5	CF110587	Shultzomica03838 Rat lung airway and parenchyma cDNA libraries Rattus norvegicus cDNA clone Contig3403 5', mRNA sequence [CF110587]	1,07	1,18	1,52
Emp3	NM_030847	Rattus norvegicus epithelial membrane protein 3 (Emp3), mRNA [NM_030847]	1,18	1,47	2,20
ENSRNOT00000007552	ENSRNOT00000007552	Rattus norvegicus succinate-Coenzyme A ligase, GDP-forming, beta subunit (predicted), mRNA (cDNA clone IMAGE:7127932), partial cds. [BC089863]	1,10	1,23	1,43
ENSRNOT00000014428	ENSRNOT00000014428	Unknown	0,95	0,97	1,25
ENSRNOT00000015702	ENSRNOT00000015702	Unknown	1,06	1,15	1,28
ENSRNOT00000025591	ENSRNOT00000025591	Unknown	1,15	1,20	1,42

ENSRNOT00000026964	ENSRNOT00000026964	Rattus norvegicus RNA-binding region (RNP1, RRM) containing 2 (predicted), mRNA (cDNA clone IMAGE:7096440). [BC078917]	0,89	1,06	1,22
ENSRNOT00000035080	ENSRNOT00000035080	Unknown	1,11	1,22	1,31
ENSRNOT00000036884	ENSRNOT00000036884	Unknown	0,92	1,02	1,34
ENSRNOT00000036927	ENSRNOT00000036927	Unknown	1,05	1,12	1,38
ENSRNOT00000039319	ENSRNOT00000039319	Unknown	1,03	1,16	1,44
ENSRNOT00000041829	ENSRNOT00000041829	Unknown	1,16	1,23	1,41
ENSRNOT00000044933	ENSRNOT00000044933	Unknown	1,01	1,01	1,25
ENSRNOT00000045593	ENSRNOT00000045593	Unknown	1,00	1,10	1,33
ENSRNOT00000048767	ENSRNOT00000048767	BF289485 EST454076 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIHH80, mRNA sequence [BF289485]	1,13	1,40	1,55
ENSRNOT00000050366	ENSRNOT00000050366	Unknown	1,19	1,06	2,02
Entpd5	NM_199394	Rattus norvegicus ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5 (Entpd5), mRNA [NM_199394]	1,02	1,24	1,79
Etfa	NM_001009668	Rattus norvegicus electron transferring flavoprotein, alpha polypeptide (Etfa), mRNA [NM_001009668]	1,38	1,48	1,73
Etfhd	NM_198742	Rattus norvegicus electron-transferring-flavoprotein dehydrogenase (Etfhd), mRNA [NM_198742]	1,61	1,70	1,93
Ets1	NM_012555	Rattus norvegicus v-ets erythroblastosis virus E26 oncogene homolog 1 (avian) (Ets1), mRNA [NM_012555]	0,96	1,21	1,89
Fabp3	NM_024162	Rattus norvegicus fatty acid binding protein 3 (Fabp3), mRNA [NM_024162]	1,47	1,80	2,16
Fasn	NM_017332	Rattus norvegicus fatty acid synthase (Fasn), mRNA [NM_017332]	0,90	0,97	1,22
Fasn	NM_017332	Rattus norvegicus fatty acid synthase (Fasn), mRNA [NM_017332]	1,06	1,12	1,22
Fath	NM_031819	Rattus norvegicus fat tumor suppressor homolog (Drosophila) (Fath), mRNA [NM_031819]	1,15	1,14	1,46
Fdx1	NM_017126	Rattus norvegicus ferredoxin 1 (Fdx1), mRNA [NM_017126]	1,19	1,73	2,74
Fdxr	NM_024153	Rattus norvegicus ferredoxin reductase (Fdxr), mRNA [NM_024153]	1,32	1,57	2,22
Fgfr1	NM_199114	Rattus norvegicus fibroblast growth factor receptor-like 1 (Fgfr1), mRNA [NM_199114]	1,09	0,88	1,33
Flot1	NM_022701	Rattus norvegicus flotillin 1 (Flot1), mRNA [NM_022701]	0,89	1,03	1,44
Fthfd	NM_022547	Rattus norvegicus formyltetrahydrofolate dehydrogenase (Fthfd), mRNA [NM_022547]	1,27	1,40	2,15
Ftl1	NM_022500	Rattus norvegicus ferritin light chain 1 (Ftl1), mRNA [NM_022500]	1,04	1,12	1,32
Ftl1	NM_022500	Rattus norvegicus ferritin light chain 1 (Ftl1), mRNA [NM_022500]	1,06	1,15	1,34
Fubp3_predicted	XM_342409	PREDICTED: Rattus norvegicus far upstream element (FUSE) binding protein 3 (predicted) (Fubp3_predicted), mRNA [XM_342409]	0,91	1,01	1,30
Fxyd5	NM_021909	Rattus norvegicus FXD domain-containing ion transport regulator 5 (Fxyd5), mRNA [NM_021909]	1,55	1,88	2,07
G6pdx	NM_017006	Rattus norvegicus glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6pdx), mRNA [NM_017006]	1,16	1,50	2,25
Gabarapl2	NM_022706	Rattus norvegicus GABA(A) receptor-associated protein like 2 (Gabarapl2), mRNA [NM_022706]	1,02	1,04	1,29
Gadd45gip1_predicted	XM_213842	PREDICTED: Rattus norvegicus growth arrest and DNA-damage-inducible, gamma interacting protein 1 (predicted) (Gadd45gip1_predicted), mRNA [XM_213842]	1,13	1,07	1,27
Gapd	NM_017008	Rattus norvegicus glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (Gapd), mRNA [NM_017008]	1,06	1,20	1,26
Garnl1	XM_578542	PREDICTED: Rattus norvegicus GTPase activating RANGAP domain-like 1 (Garnl1), mRNA [XM_578542]	1,16	1,10	1,43
Gja1	NM_012567	Rattus norvegicus gap junction membrane channel protein alpha 1 (Gja1), mRNA [NM_012567]	1,24	1,43	1,77
Glul	BC072694	Rattus norvegicus glutamine synthetase 1, mRNA (cDNA clone MGC:91746 IMAGE:7103110), complete cds [BC072694]	0,93	1,05	1,28
Glul	BC072694	Rattus norvegicus glutamine synthetase 1, mRNA (cDNA clone MGC:91746 IMAGE:7103110), complete cds [BC072694]	0,98	0,97	1,42
Gns_predicted	XM_576231	PREDICTED: Rattus norvegicus glucosamine (N-acetyl)-6-sulfatase (predicted) (Gns_predicted), mRNA [XM_576231]	1,05	1,14	1,44
Gpx1	NM_030826	Rattus norvegicus glutathione peroxidase 1 (Gpx1), mRNA [NM_030826]	1,27	1,10	1,58
Gpx1	NM_030826	Rattus norvegicus glutathione peroxidase 1 (Gpx1), mRNA [NM_030826]	1,15	1,15	1,63
Grin1a	XM_343422	Rattus norvegicus glutamate receptor, ionotropic (Grin1a), mRNA [XM_343422]	1,06	1,10	1,39
Gsdmdc1_predicted	XM_235434	PREDICTED: Rattus norvegicus gasdermin domain containing 1 (predicted) (Gsdmdc1_predicted), mRNA [XM_235434]	0,87	0,86	1,76
Gsta5	NM_031509	Rattus norvegicus glutathione S-transferase A5 (Gsta5), mRNA [NM_031509]	1,28	1,64	2,36
Gstm1	NM_017014	Rattus norvegicus glutathione S-transferase, mu 1 (Gstm1), mRNA [NM_017014]	1,25	1,30	1,49
Gstm2	NM_177426	Rattus norvegicus glutathione S-transferase, mu 2 (Gstm2), mRNA [NM_177426]	1,18	1,21	1,32
Gsto1	NM_001007602	Rattus norvegicus glutathione S-transferase omega 1 (Gsto1), mRNA [NM_001007602]	1,15	1,37	1,52
Gstp1	NM_012577	Rattus norvegicus glutathione-S-transferase, pi 1 (Gstp1), mRNA [NM_012577]	1,16	1,17	1,46
Gstp2	NM_138974	Rattus norvegicus glutathione S-transferase, pi 2 (Gstp2), mRNA [NM_138974]	1,18	1,07	1,66
Gtppb4	NM_053689	Rattus norvegicus G protein-binding protein CRFG (Gtppb4), mRNA [NM_053689]	1,00	1,17	1,27
H1f0	NM_012578	Rattus norvegicus H1 histone family, member 0 (H1f0), mRNA [NM_012578]	1,02	0,94	1,36
Hadha	NM_130826	Rattus norvegicus hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase/3-ketoacyl-Coenzyme A thiolase/enoyl-Coenzyme A hydratase (trifunctional protein), alpha subunit (Hadha), mRNA [NM_130826]	0,93	0,88	1,22
Hadhsc	NM_057186	Rattus norvegicus L-3-hydroxyacyl-Coenzyme A dehydrogenase, short chain (Hadhsc), mRNA [NM_057186]	1,04	1,51	1,87
Hao2	NM_032082	Rattus norvegicus hydroxyacid oxidase 2 (long chain) (Hao2), mRNA [NM_032082]	1,83	2,15	2,42
Herpud1	NM_053523	Rattus norvegicus homocysteine-inducible, endoplasmic reticulum stress-inducible, ubiquitin-like domain member 1 (Herpud1), mRNA [NM_053523]	0,99	1,27	1,77
Hes7_predicted	XM_220597	PREDICTED: Rattus norvegicus hairy and enhancer of split 7 (Drosophila) (predicted) (Hes7_predicted), mRNA [XM_220597]	0,97	1,18	1,26

Hexb_predicted	NM_001011946	Rattus norvegicus hexosaminidase B (predicted) (Hexb_predicted), mRNA [NM_001011946]	1,31	1,01	1,75
Hif1a	NM_024359	Rattus norvegicus hypoxia inducible factor 1, alpha subunit (Hif1a), mRNA [NM_024359]	0,97	1,15	1,45
Hif1a	NM_024359	Rattus norvegicus hypoxia inducible factor 1, alpha subunit (Hif1a), mRNA [NM_024359]	0,88	0,97	1,52
Hmgb1	NM_012963	Rattus norvegicus high mobility group box 1 (Hmgb1), mRNA [NM_012963]	0,90	0,97	1,28
Hmgb1	NM_012963	Rattus norvegicus high mobility group box 1 (Hmgb1), mRNA [NM_012963]	0,94	1,06	1,31
Hmgcr	NM_013134	Rattus norvegicus 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A reductase (Hmgcr), mRNA [NM_013134]	0,90	1,03	1,52
Hmgcs1	NM_017268	Rattus norvegicus 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 1 (Hmgcs1), mRNA [NM_017268]	1,09	1,50	3,10
Hmgcs2	NM_173094	Rattus norvegicus 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2 (Hmgcs2), mRNA [NM_173094]	1,22	1,38	1,85
Hp	NM_012582	Rattus norvegicus haptoglobin (Hp), mRNA [NM_012582]	2,12	2,60	2,98
Hpgd	NM_024390	Rattus norvegicus 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (Hpgd), mRNA [NM_024390]	1,32	1,50	1,83
Hrasls3	NM_017060	Rattus norvegicus HRAS like suppressor (Hrasls3), mRNA [NM_017060]	1,42	1,75	2,44
Hrasls3	NM_017060	Rattus norvegicus HRAS like suppressor (Hrasls3), mRNA [NM_017060]	1,37	1,81	2,45
Hrmt1l2	NM_024363	Rattus norvegicus heterogeneous nuclear ribonucleoproteins methyltransferase-like 2 (S. cerevisiae) (Hrmt1l2), mRNA [NM_024363]	0,95	1,12	1,24
Hsd11b1	NM_017080	Rattus norvegicus hydroxysteroid 11-beta dehydrogenase 1 (Hsd11b1), mRNA [NM_017080]	1,48	1,70	2,24
Hsd17b10	NM_031682	Rattus norvegicus hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 10 (Hsd17b10), mRNA [NM_031682]	1,21	1,72	2,32
Hsd17b7	NM_017235	Rattus norvegicus hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 7 (Hsd17b7), mRNA [NM_017235]	1,06	1,28	1,48
Hsd3b1	NM_017265	Rattus norvegicus hydroxy-delta-5-steroid dehydrogenase, 3 beta- and steroid delta-isomerase 1 (Hsd3b1), mRNA [NM_017265]	2,06	4,27	7,09
Hsd3b1_predicted	NM_001007719	Rattus norvegicus hydroxysteroid dehydrogenase-1, delta<5>-3-beta (predicted) (Hsd3b1_predicted), mRNA [NM_001007719]	4,30	4,49	5,69
Hspa8	NM_024351	Rattus norvegicus heat shock protein 8 (Hspa8), mRNA [NM_024351]	1,09	1,17	1,31
Hspd1	NM_022229	Rattus norvegicus heat shock protein 1 (chaperonin) (Hspd1), mRNA [NM_022229]	0,97	1,19	1,88
Hspd1	NM_022229	Rattus norvegicus heat shock protein 1 (chaperonin) (Hspd1), mRNA [NM_022229]	1,09	1,33	2,60
Hspd1	NM_022229	Rattus norvegicus heat shock protein 1 (chaperonin) (Hspd1), mRNA [NM_022229]	1,19	1,50	2,66
Hspd1	NM_022229	Rattus norvegicus heat shock protein 1 (chaperonin) (Hspd1), mRNA [NM_022229]	1,11	1,56	2,88
Hspe1	NM_012966	Rattus norvegicus heat shock 10 kDa protein 1 (Hspe1), mRNA [NM_012966]	1,40	1,95	3,85
Hyal2	NM_172040	Rattus norvegicus hyaluronidase 2 (Hyal2), mRNA [NM_172040]	0,82	0,91	1,25
Id2	NM_013060	Rattus norvegicus Inhibitor of DNA binding 2, dominant negative helix-loop-helix protein (Id2), mRNA [NM_013060]	1,17	1,05	2,17
ldh1	NM_031510	Rattus norvegicus isocitrate dehydrogenase 1 (NADP+), soluble (ldh1), mRNA [NM_031510]	1,15	1,26	1,56
ldh3g	NM_031551	Rattus norvegicus isocitrate dehydrogenase 3, gamma (ldh3g), mRNA [NM_031551]	1,06	1,07	1,39
ldi1	NM_053539	Rattus norvegicus isopentenyl-diphosphate delta isomerase (ldi1), mRNA [NM_053539]	1,00	1,19	2,34
lfi27l	NM_130743	Rattus norvegicus interferon, alpha-inducible protein 27-like (lfi27l), mRNA [NM_130743]	0,89	1,19	1,30
lfitm2	NM_030833	Rattus norvegicus interferon induced transmembrane protein 2 (1-8D) (lfitm2), mRNA [NM_030833]	1,28	1,33	1,73
Igfbp2	NM_013122	Rattus norvegicus insulin-like growth factor binding protein 2 (Igfbp2), mRNA [NM_013122]	1,32	2,15	3,48
Igfbp7_predicted	XM_214014	Rattus norvegicus similar to mac25 (LOC289560), mRNA [XM_214014]	1,16	1,14	1,46
Il11ra1	NM_139116	Rattus norvegicus interleukin 11 receptor, alpha chain 1 (Il11ra1), mRNA [NM_139116]	0,93	1,07	1,25
Il18	NM_019165	Rattus norvegicus interleukin 18 (Il18), mRNA [NM_019165]	1,15	1,44	1,78
Il24	NM_133311	Rattus norvegicus interleukin 24 (Il24), mRNA [NM_133311]	0,83	1,70	1,30
Ilvbl_predicted	XM_343174	PREDICTED: Rattus norvegicus ilvB (bacterial acetolactate synthase)-like (predicted) (Ilvbl_predicted), mRNA [XM_343174]	1,05	1,10	1,33
Impdh1_predicted	XM_342650	PREDICTED: Rattus norvegicus IMP (inosine monophosphate) dehydrogenase 1 (predicted) (Impdh1_predicted), mRNA [XM_342650]	1,09	1,32	2,31
Inha	NM_012590	Rattus norvegicus inhibin alpha (Inha), mRNA [NM_012590]	0,97	1,25	1,71
Insig1	NM_022392	Rattus norvegicus insulin induced gene 1 (Insig1), mRNA [NM_022392]	1,04	1,13	1,73
Insig1	NM_022392	Rattus norvegicus insulin induced gene 1 (Insig1), mRNA [NM_022392]	0,92	1,23	1,79
Insig1	NM_022392	Rattus norvegicus insulin induced gene 1 (Insig1), mRNA [NM_022392]	1,10	1,22	2,23
Insig1	NM_022392	Rattus norvegicus insulin induced gene 1 (Insig1), mRNA [NM_022392]	1,16	1,39	2,28
InsI3	NM_053680	Rattus norvegicus insulin-like 3 (InsI3), mRNA [NM_053680]	1,19	1,66	2,17
Jun	NM_021835	Rattus norvegicus v-jun sarcoma virus 17 oncogene homolog (avian) (Jun), mRNA [NM_021835]	1,29	1,53	1,81
Kcnj8	NM_017099	Rattus norvegicus potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 8 (Kcnj8), mRNA [NM_017099]	1,04	1,13	1,44
Kpna1	NM_198726	Rattus norvegicus karyopherin alpha 1 (importin alpha 5) (Kpna1), mRNA [NM_198726]	1,04	0,97	1,35
Kremen	NM_053649	Rattus norvegicus kringle containing transmembrane protein (Kremen), mRNA [NM_053649]	2,80	6,61	5,84
Lamb2	NM_012974	Rattus norvegicus laminin, beta 2 (Lamb2), mRNA [NM_012974]	1,01	1,11	1,30
Lamr1	NM_017138	Rattus norvegicus laminin receptor 1 (67kD, ribosomal protein SA) (Lamr1), mRNA [NM_017138]	1,06	1,05	1,34
Lepre1	NM_053667	Rattus norvegicus leprecan 1 (Lepre1), mRNA [NM_053667]	1,06	1,04	1,35
Leprel2_predicted	XM_216278	Rattus norvegicus similar to leprecan-like protein 2 (LOC297595), mRNA [XM_216278]	0,94	1,00	1,41
Lgals3bp	NM_139096	Rattus norvegicus lectin, galactoside-binding, soluble, 3 binding protein (Lgals3bp), mRNA [NM_139096]	0,93	1,09	1,30
LOC287442	XM_213333	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to novel protein of unknown function (DUF423) family member (LOC287442), mRNA [XM_213333]	1,20	1,25	1,34
LOC288707	XM_213793	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Glycolipid transfer protein (LOC288707), mRNA [XM_213793]	1,07	1,20	1,49

LOC289324	XM_213960	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Protein HSPC163 (LOC289324), mRNA [XM_213960]	1,10	1,12	1,33
LOC289614	XM_212746	Rattus norvegicus similar to Heat shock 60 kD protein 1 (LOC289614), mRNA [XM_212746]	1,24	1,60	2,88
LOC289810	XM_214099	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to small unique nuclear receptor co-repressor (LOC289810), mRNA [XM_214099]	1,18	1,21	1,42
LOC289830	XM_214103	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L28 (LOC289830), mRNA [XM_214103]	0,98	1,10	1,35
LOC290628	XM_214288	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 9430098E02 (LOC290628), mRNA [XM_214288]	1,02	1,08	1,37
LOC290678	XM_224779	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein S10 (LOC290678), mRNA [XM_224779]	1,02	1,08	1,27
LOC290902	XM_225042	Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (LOC290902), mRNA [XM_225042]	1,09	1,08	1,23
LOC290908	XM_225046	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein S23 (LOC290908), mRNA [XM_225046]	1,14	1,21	1,51
LOC291461	XM_212821	Rattus norvegicus similar to Heat shock cognate 71 kDa protein (LOC291461), mRNA [XM_212821]	1,06	1,03	1,35
LOC291545	XM_225859	Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (phosphorylating) (EC 1.2.1.12) - mouse (LOC291545), mRNA [XM_225859]	0,94	1,18	1,30
LOC292088	XM_238058	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC292088 (LOC292088), mRNA [XM_238058]	1,14	1,10	1,73
LOC292195	XM_217716	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L7a (LOC292195), mRNA [XM_217716]	1,04	1,10	1,31
LOC292654	XM_214831	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ20512 (LOC292654), mRNA [XM_214831]	1,03	1,14	1,26
LOC292882	XM_212869	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L19 (LOC292882), mRNA [XM_212869]	1,11	1,04	1,52
LOC293115	XM_218912	Rattus norvegicus similar to Rpl7a protein (LOC293115), mRNA [XM_218912]	1,05	1,14	1,29
LOC293702	XM_215196	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to binding protein (LOC293702), mRNA [XM_215196]	1,09	1,12	1,36
LOC293844	XM_215225	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to UCH37-interacting protein 1 (LOC293844), mRNA [XM_215225]	1,22	1,14	1,30
LOC293846	XM_212890	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L28 (LOC293846), mRNA [XM_212890]	1,13	1,22	1,45
LOC293862	XM_215220	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to XAP-5 protein (LOC293862), mRNA [XM_215220]	1,11	1,14	1,79
LOC293862	XM_215220	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to XAP-5 protein (LOC293862), mRNA [XM_215220]	1,12	1,26	2,08
LOC294067	XM_215278	Rattus norvegicus similar to pp21 homolog (LOC294067), mRNA [XM_215278]	1,78	2,44	2,98
LOC294660	XM_212921	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to peroxiredoxin 1 (LOC294660), mRNA [XM_212921]	0,97	1,22	1,24
LOC294816	XM_226847	Rattus norvegicus similar to Rpl7a protein (LOC294816), mRNA [XM_226847]	1,08	1,07	1,23
LOC294844	XM_226873	Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (phosphorylating) (EC 1.2.1.12) - mouse (LOC294844), mRNA [XM_226873]	1,09	1,15	1,26
LOC295452	XM_227696	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (LOC295452), mRNA [XM_227696]	1,00	1,16	1,25
LOC295961	XM_215785	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to MMRP19 (LOC295961), mRNA [XM_215785]	0,87	1,03	1,42
LOC296165	XM_215850	Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L12 (LOC296165), mRNA [XM_215850]	1,10	1,04	1,23
LOC296582	XM_231081	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein S2 (LOC296582), mRNA [XM_231081]	1,15	1,22	1,33
LOC297816	XM_232669	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 40S ribosomal protein S16 (LOC297816), mRNA [XM_232669]	1,10	1,04	1,26
LOC298241	XM_233177	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CPN10-like protein (LOC298241), mRNA [XM_233177]	1,27	1,97	3,24
LOC298910	XM_233992	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L35 (LOC298910), mRNA [XM_233992]	1,03	1,15	1,58
LOC299227	XM_234458	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (LOC299227), mRNA [XM_234458]	1,07	1,15	1,42
LOC299244	XM_234370	Rattus norvegicus similar to Ab2-162 (LOC299244), mRNA [XM_234370]	1,15	1,18	1,26
LOC299254	XM_234486	Rattus norvegicus similar to 40S RIBOSOMAL PROTEIN SA (P40) (34/67 KD LAMININ RECEPTOR) (LOC299254), mRNA [XM_234486]	1,12	1,03	1,24
LOC299254	XM_234486	Rattus norvegicus similar to 40S RIBOSOMAL PROTEIN SA (P40) (34/67 KD LAMININ RECEPTOR) (LOC299254), mRNA [XM_234486]	1,06	1,05	1,29
LOC299254	XM_234486	Rattus norvegicus similar to 40S RIBOSOMAL PROTEIN SA (P40) (34/67 KD LAMININ RECEPTOR) (LOC299254), mRNA [XM_234486]	1,06	1,13	1,31
LOC299254	XM_234486	Rattus norvegicus similar to 40S RIBOSOMAL PROTEIN SA (P40) (34/67 KD LAMININ RECEPTOR) (LOC299254), mRNA [XM_234486]	1,13	1,10	1,33
LOC299254	XM_234486	Rattus norvegicus similar to 40S RIBOSOMAL PROTEIN SA (P40) (34/67 KD LAMININ RECEPTOR) (LOC299254), mRNA [XM_234486]	1,05	1,02	1,34
LOC299254	XM_234486	Rattus norvegicus similar to 40S RIBOSOMAL PROTEIN SA (P40) (34/67 KD LAMININ RECEPTOR) (LOC299254), mRNA [XM_234486]	1,00	1,01	1,38
LOC299254	XM_234486	Rattus norvegicus similar to 40S RIBOSOMAL PROTEIN SA (P40) (34/67 KD LAMININ RECEPTOR) (LOC299254), mRNA [XM_234486]	1,22	1,10	1,40
LOC299558	XM_234844	Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (phosphorylating) (EC 1.2.1.12) - mouse (LOC299558), mRNA [XM_234844]	1,10	1,19	1,24
LOC299823	XM_235190	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein S10 (LOC299823), mRNA [XM_235190]	1,26	1,06	1,24
LOC299848	XM_235217	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 40S ribosomal protein S26 (LOC299848), mRNA [XM_235217]	1,03	1,12	1,56
LOC299934	XM_235305	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L7, cytosolic [validated] - rat (LOC299934), mRNA [XM_235305]	1,07	1,09	1,45
LOC300249	XM_213105	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L4, cytosolic [validated] - rat (LOC300249), mRNA [XM_213105]	0,86	0,92	1,23
LOC300821	XM_236388	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L35 (LOC300821), mRNA [XM_236388]	0,96	0,87	1,46
LOC301174	XM_236837	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L10 (LOC301174), mRNA [XM_236837]	1,00	0,99	2,02
LOC301295	XM_217363	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to EF-hand domain (C-terminal) containing 1 (LOC301295), mRNA [XM_217363]	1,00	1,19	1,82
LOC301299	XM_217361	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L10a (LOC301299), mRNA [XM_217361]	1,18	1,18	1,28
LOC301438	XM_217412	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 40S ribosomal protein S2 (LOC301438), mRNA [XM_217412]	1,17	1,16	1,52
LOC301444	XM_237195	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Ac1-130 (LOC301444), mRNA [XM_237195]	1,18	1,40	1,48
LOC302157	XM_229736	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC302157), mRNA [XM_229736]	1,03	1,05	1,47
LOC302388	XM_228526	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L19 (LOC302388), mRNA [XM_228526]	0,96	0,91	1,35

LOC302393	XM_228533	Rattus norvegicus similar to 40S ribosomal protein S8 (LOC302393), mRNA [XM_228533]	0,93	1,17	1,49
LOC302397	XM_228557	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1110008J03 (LOC302397), mRNA [XM_228557]	1,10	1,10	1,29
LOC302528	XM_228717	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L37a (LOC302528), mRNA [XM_228717]	0,97	0,95	1,36
LOC302564	XM_228774	Rattus norvegicus similar to 60S RIBOSOMAL PROTEIN L3 (L4) (LOC302564), mRNA [XM_228774]	0,96	0,97	1,36
LOC302711	XM_217623	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to transducin (beta)-like 1 X-linked (LOC302711), mRNA [XM_217623]	0,65	0,92	1,44
LOC302797	XM_229115	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60 kDa heat shock protein, mitochondrial precursor (Hsp60) (60 kDa chaperonin) (CPN60) (Heat shock protein 60) (HSP-60) (Mitochondrial matrix protein P1) (HSP-65) (LOC302797), mRNA [XM_229115]	1,30	1,62	2,83
LOC302809	XM_229109	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (phosphorylating) (EC 1.2.1.12) - mouse (LOC302809), mRNA [XM_229109]	1,19	1,22	1,32
LOC303930	XM_221450	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L9 (LOC303930), mRNA [XM_221450]	1,07	1,07	1,40
LOC304035	XM_221603	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L7a (LOC304035), mRNA [XM_221603]	0,91	1,03	1,20
LOC304252	XM_221875	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4930434E21 (LOC304252), mRNA [XM_221875]	0,97	1,42	1,48
LOC304338	XM_221978	Rattus norvegicus similar to 40S ribosomal protein S8 (LOC304338), mRNA [XM_221978]	0,91	1,08	1,48
LOC304447	XM_222163	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to myosin, light polypeptide 6, alkali, smooth muscle and non-muscle (LOC304447), mRNA [XM_222163]	1,07	1,17	1,37
LOC304754	XM_222590	Rattus norvegicus similar to Proteasome activator complex subunit 2 (Proteasome activator 28-beta subunit) (PA28beta) (PA28b) (Activator of multicatalytic protease subunit 2) (11S regulator complex beta subunit) (REG-beta) (LOC304754), mRNA [XM_222590]	1,22	1,24	1,38
LOC305087	XM_223094	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L9 (LOC305087), mRNA [XM_223094]	1,07	1,13	1,55
LOC305855	XM_224007	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L7a (LOC305855), mRNA [XM_224007]	0,94	1,06	1,29
LOC306079	XM_224414	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 3100001N19 (LOC306079), mRNA [XM_224414]	0,87	0,88	1,32
LOC306188	XM_224540	Rattus norvegicus similar to Rpl7a protein (LOC306188), mRNA [XM_224540]	1,02	1,03	1,20
LOC306511	XM_224924	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L9 (LOC306511), mRNA [XM_224924]	1,02	1,06	1,41
LOC307096	XM_225544	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to aldo-keto reductase family 1, member C12 (LOC307096), mRNA [XM_225544]	1,07	0,86	1,37
LOC307263	XM_225724	Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (LOC307263), mRNA [XM_225724]	1,09	1,21	1,31
LOC308536	XM_218529	Rattus norvegicus similar to Phosphoglycerate kinase, testis specific (LOC308536), mRNA [XM_218529]	1,07	1,33	1,56
LOC308654	XM_218706	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to zinc finger, matrin type 1 (LOC308654), mRNA [XM_218706]	1,05	1,02	1,27
LOC308950	XM_219278	Rattus norvegicus similar to 60 kDa heat shock protein, mitochondrial precursor (Hsp60) (60 kDa chaperonin) (CPN60) (Heat shock protein 60) (HSP-60) (Mitochondrial matrix protein P1) (HSP-65) (LOC308950), mRNA [XM_219278]	1,23	1,30	1,84
LOC309345	XM_219822	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (LOC309345), mRNA [XM_219822]	1,04	1,14	1,26
LOC310284	XM_227018	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L9 (LOC310284), mRNA [XM_227018]	0,90	1,03	1,44
LOC310647	XM_227422	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 9430022A14 (LOC310647), mRNA [XM_227422]	1,13	1,16	1,25
LOC311122	XM_230015	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to solute carrier family 25 (mitochondrial carrier, Aralar), member 12 (LOC311122), mRNA [XM_230015]	1,31	1,17	1,32
LOC311687	XM_230930	Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L7a (Surfeit locus protein 3) (PLA-X polypeptide) (LOC311687), mRNA [XM_230930]	1,10	1,15	1,47
LOC312678	XM_232246	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Retinoblastoma-binding protein 2 (RBBP-2) (LOC312678), mRNA [XM_232246]	1,07	1,12	1,26
LOC313496	XM_233382	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC31967 (LOC313496), mRNA [XM_233382]	1,22	0,76	1,37
LOC313824	XM_233790	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4632413C14 (LOC313824), mRNA [XM_233790]	1,16	1,23	1,36
LOC314394	XM_234491	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1190005P17 (LOC314394), mRNA [XM_234491]	0,95	1,07	1,22
LOC314570	XM_234810	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to LRRGT00083 (LOC314570), mRNA [XM_234810]	1,24	1,29	1,32
LOC314860	XM_235176	Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L7a (Surfeit locus protein 3) (PLA-X polypeptide) (LOC314860), mRNA [XM_235176]	1,01	1,11	1,24
LOC315007	XM_235346	Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (phosphorylating) (EC 1.2.1.12) - mouse (LOC315007), mRNA [XM_235346]	0,93	1,13	1,22
LOC316158	XM_236845	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 40S ribosomal protein S26 (LOC316158), mRNA [XM_236845]	1,16	1,17	1,57
LOC316856	XM_229366	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC316856), mRNA [XM_229366]	0,86	0,82	1,37
LOC316866	XM_229392	Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L7a (Surfeit locus protein 3) (PLA-X polypeptide) (LOC316866), mRNA [XM_229392]	1,09	1,12	1,28
LOC317043	XM_229742	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L19 (LOC317043), mRNA [XM_229742]	0,98	0,94	1,37
LOC317168	XM_228411	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (LOC317168), mRNA [XM_228411]	1,05	1,13	1,24
LOC360478	XM_346881	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC360478 (LOC360478), mRNA [XM_346881]	1,30	1,35	1,97
LOC361115	XM_341403	Rattus norvegicus similar to Translationally controlled tumor protein (TCTP) (p23) (21 kDa polypeptide) (p21) (Lens epithelial protein) (LOC361115), mRNA [XM_341403]	1,02	1,10	1,40
LOC361865	XM_342159	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L7a (LOC361865), mRNA [XM_342159]	0,97	1,04	1,28
LOC362040	XM_342341	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2310008M10 (LOC362040), mRNA [XM_342341]	0,96	1,08	1,34
LOC362153	XM_342453	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to mKIAA1604 protein (LOC362153), mRNA [XM_342453]	0,92	1,18	1,28
LOC362290	XM_342604	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L7a (LOC362290), mRNA [XM_342604]	1,02	1,09	1,33
LOC363441	XM_343760	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to NADH dehydrogenase (LOC363441), mRNA [XM_343760]	1,11	1,15	1,38
LOC363636	XM_343925	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to large subunit ribosomal protein L36a (LOC363636), mRNA [XM_343925]	1,21	1,22	1,60
LOC363970	XM_344131	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to tumor protein, translationally-controlled 1 (LOC363970), mRNA [XM_344131]	1,13	1,30	1,53
LOC364408	XM_344424	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L6 (Neoplasm-related protein C140) (LOC364408), mRNA [XM_344424]	0,96	1,01	1,47

LOC364699	XM_344588	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein S2 (LOC364699), mRNA [XM_344588]	1,17	1,24	1,29
LOC364977	XM_344746	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein S10 (LOC364977), mRNA [XM_344746]	0,86	1,09	1,45
LOC365061	XM_344800	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L19 (LOC365061), mRNA [XM_344800]	1,12	1,06	1,37
LOC365368	XM_344962	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to IL-27 p28 subunit (LOC365368), mRNA [XM_344962]	1,32	1,37	2,47
LOC365560	XM_345098	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to large subunit ribosomal protein L36a (LOC365560), mRNA [XM_345098]	1,35	1,62	2,22
LOC366036	XM_345350	Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L10 (QM protein homolog) (LOC366036), mRNA [XM_345350]	1,15	1,20	2,33
LOC366048	XM_345356	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to myosin, light polypeptide 6, alkali, smooth muscle and non-muscle (LOC366048), mRNA [XM_345356]	0,93	1,17	1,33
LOC366145	XM_345411	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L6 (LOC366145), mRNA [XM_345411]	1,17	1,05	1,94
LOC366205	XM_345441	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to fibronectin leucine rich transmembrane protein 3 (LOC366205), mRNA [XM_345441]	1,00	1,46	2,23
LOC366239	XM_345462	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Rpl7a protein (LOC366239), mRNA [XM_345462]	0,99	1,08	1,33
LOC366303	XM_345499	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Nonspecific lipid-transfer protein, mitochondrial precursor (NSL-TP) (Sterol carrier protein 2) (SCP-2) (Sterol carrier protein X) (SCP-X) (SCPX) (LOC366303), mRNA [XM_345499]	1,16	1,22	1,34
LOC366639	XM_345680	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Aldo-keto reductase family 1, member B8 (LOC366639), mRNA [XM_345680]	1,30	1,04	2,55
LOC366833	XM_345796	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein S19 (LOC366833), mRNA [XM_345796]	0,93	0,99	1,31
LOC367050	XM_345916	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L35 (LOC367050), mRNA [XM_345916]	1,10	0,93	1,43
LOC367077	XM_345933	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein S26 (LOC367077), mRNA [XM_345933]	0,97	1,09	1,35
LOC367226	XM_346024	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (phosphorylating) (EC 1.2.1.12) - mouse (LOC367226), mRNA [XM_346024]	1,17	1,20	1,38
LOC367761	XM_346284	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 40S ribosomal protein S19 (LOC367761), mRNA [XM_346284]	0,92	0,92	1,28
Lpd	NM_134389	Rattus norvegicus lipidosin (Lpd), mRNA [NM_134389]	1,43	1,57	1,79
Lphn1	NM_022962	Rattus norvegicus latrophilin 1 (Lphn1), mRNA [NM_022962]	1,16	1,20	1,26
Lr8	NM_134390	Rattus norvegicus LR8 protein (Lr8), mRNA [NM_134390]	1,41	1,89	3,05
Lrrk1_predicted	XM_218760	PREDICTED: Rattus norvegicus leucine-rich repeat kinase 1 (predicted) (Lrrk1_predicted), mRNA [XM_218760]	1,01	1,21	1,31
Lss	NM_031049	Rattus norvegicus lanosterol synthase (Lss), mRNA [NM_031049]	0,86	1,10	1,54
Lyz	NM_012771	Rattus norvegicus lysozyme (Lyz), mRNA [NM_012771]	1,17	1,32	1,79
M34230	M34230	RATHPA1 Rat haptoglobin (Hp) gene, exons 1,2 and 3 [M34230]	1,58	1,80	1,56
Maged2	NM_080479	Rattus norvegicus melanoma antigen, family D, 2 (Maged2), mRNA [NM_080479]	1,28	1,43	1,84
Maged2	NM_080479	Rattus norvegicus melanoma antigen, family D, 2 (Maged2), mRNA [NM_080479]	1,14	1,54	1,91
Man2b1	NM_199404	Rattus norvegicus mannosidase 2, alpha B1 (Man2b1), mRNA [NM_199404]	1,20	1,08	1,55
Mapk14	U73142	Rattus norvegicus p38 mitogen activated protein kinase mRNA, complete cds. [U73142]	1,20	1,02	1,26
Mapkapk2	NM_178102	Rattus norvegicus MAP kinase-activated protein kinase 2 (Mapkapk2), mRNA [NM_178102]	1,04	1,02	1,23
Mbd2_predicted	XM_214544	Rattus norvegicus similar to methyl-CpG binding domain protein 2 (LOC291525), mRNA [XM_214544]	1,14	1,08	1,21
Mdh1	NM_033235	Rattus norvegicus malate dehydrogenase 1, NAD (soluble) (Mdh1), mRNA [NM_033235]	1,16	1,61	1,87
Me1	NM_012600	Rattus norvegicus malic enzyme 1 (Me1), mRNA [NM_012600]	0,95	1,03	1,37
Me1	M30596	RATMAL3F Rat cytosolic malic enzyme mRNA, 3' flank [M30596]	1,14	1,06	1,43
Men1	NM_019208	Rattus norvegicus multiple endocrine neoplasia 1 (Men1), mRNA [NM_019208]	0,94	1,06	1,23
MGC105601	NM_001009620	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ20898 (MGC105601), mRNA [NM_001009620]	1,14	1,26	1,63
MGC105647	NM_001007008	Rattus norvegicus similar to Nur77 downstream protein 2 (MGC105647), mRNA [NM_001007008]	1,06	1,22	1,67
MGC105691	NM_001009422	Rattus norvegicus NIPSNAP-related protein (MGC105691), mRNA [NM_001009422]	1,05	1,39	1,60
MGC109115	NM_001009671	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ13448 (MGC109115), mRNA [NM_001009671]	0,94	1,08	1,84
MGC72578	NM_001009541	Rattus norvegicus similar to immediate early response 2 (MGC72578), mRNA [NM_001009541]	0,82	0,97	2,03
MGC72973	NM_198776	Rattus norvegicus beta-glo (MGC72973), mRNA [NM_198776]	0,93	1,38	1,88
MGC95138	NM_001006995	Rattus norvegicus similar to acetyl CoA transferase-like (MGC95138), mRNA [NM_001006995]	1,16	1,56	1,79
Mgst1	NM_134349	Rattus norvegicus microsomal glutathione S-transferase 1 (Mgst1), mRNA [NM_134349]	1,23	1,46	1,49
Mgst2_predicted	XM_215562	PREDICTED: Rattus norvegicus microsomal glutathione S-transferase 2 (predicted) (Mgst2_predicted), mRNA [XM_215562]	1,06	1,22	1,62
Mif2_predicted	XM_232350	PREDICTED: Rattus norvegicus myeloid leukemia factor 2 (predicted) (Mif2_predicted), mRNA [XM_232350]	0,89	1,08	1,29
Mobkl2c_predicted	XM_575887	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to map kinase interacting kinase (LOC500526), mRNA [XM_575887]	1,10	1,18	1,21
Morf4l2	NM_001007714	Rattus norvegicus MORF-related gene X (Morf4l2), mRNA [NM_001007714]	1,12	1,08	1,34
Mphosph10_predicted	XM_238166	PREDICTED: Rattus norvegicus M-phase phosphoprotein 10 (U3 small nucleolar ribonucleoprotein) (predicted) (Mphosph10_predicted), mRNA [XM_238166]	1,14	1,09	1,57
Mrpl14_predicted	XM_217350	PREDICTED: Rattus norvegicus mitochondrial ribosomal protein L14 (predicted) (Mrpl14_predicted), mRNA [XM_217350]	1,02	0,90	1,40
Mrpl17	NM_133539	Rattus norvegicus mitochondrial ribosomal protein L17 (Mrpl17), mRNA [NM_133539]	1,00	1,02	1,26
Mrpl17	NM_133539	Rattus norvegicus mitochondrial ribosomal protein L17 (Mrpl17), mRNA [NM_133539]	0,98	0,96	1,80
Mrps35_predicted	XM_216306	PREDICTED: Rattus norvegicus mitochondrial ribosomal protein S35 (predicted) (Mrps35_predicted), mRNA [XM_216306]	0,98	1,16	1,31
Mtch1_predicted	XM_215358	PREDICTED: Rattus norvegicus mitochondrial carrier homolog 1 (C. elegans) (predicted) (Mtch1_predicted), mRNA [XM_215358]	1,35	1,56	1,85
Ndrp2	NM_133583	Rattus norvegicus N-myc downstream regulated gene 2 (Ndrp2), mRNA [NM_133583]	1,01	1,29	1,51

Ngfrap1	NM_053401	Rattus norvegicus nerve growth factor receptor (TNFRSF16) associated protein 1 (Ngfrap1), mRNA [NM_053401]	1,58	2,19	2,74
Nipsnap1_predicted	XM_341249	PREDICTED: Rattus norvegicus 4-nitrophenylphosphatase domain and non-neuronal SNAP25-like protein homolog 1 (C. elegans) (predicted) (Nipsnap1_predicted), mRNA [XM_341249]	1,12	1,51	1,52
NM_001013035	NM_001013035	Rattus norvegicus B-cell receptor-associated protein 37 (Bcap37), mRNA [NM_001013035]	0,95	0,96	1,22
NM_001013061	NM_001013061	Rattus norvegicus adenine phosphoribosyl transferase (predicted) (Aprt_predicted), mRNA [NM_001013061]	0,95	1,01	1,58
NM_001013071	NM_001013071	Rattus norvegicus transmembrane 7 superfamily member 2 (predicted) (Tm7sf2_predicted), mRNA [NM_001013071]	1,83	4,38	6,46
NM_001013179	NM_001013179	Rattus norvegicus hairy and enhancer of split 6 (Drosophila) (predicted) (Hes6_predicted), mRNA [NM_001013179]	1,07	1,00	1,60
NM_001013206	NM_001013206	Rattus norvegicus mitochondrial ribosomal protein S26 (predicted) (Mrps26_predicted), mRNA [NM_001013206]	1,09	1,18	1,23
NM_001013853	NM_001013853	Rattus norvegicus globin, alpha (LOC287167), mRNA [NM_001013853]	1,12	1,29	1,93
NM_001013889	NM_001013889	Rattus norvegicus carboxylesterase-like (LOC291863), mRNA [NM_001013889]	1,26	1,36	1,38
NM_001013957	NM_001013957	Rattus norvegicus similar to Polyglutamine binding protein 1 (LOC302557), mRNA [NM_001013957]	1,22	1,31	1,71
NM_001013960	NM_001013960	Rattus norvegicus acyl-Coenzyme A thioesterase 2, mitochondrial (Acate2), mRNA [NM_001013960]	1,00	0,92	1,29
NM_001013994	NM_001013994	Rattus norvegicus REST corepressor 2 (Rcor2), mRNA [NM_001013994]	1,01	0,92	1,51
NM_001014088	NM_001014088	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2310005P05 (predicted) (RGD1307401_predicted), mRNA [NM_001014088]	1,18	1,46	1,91
NM_001014090	NM_001014090	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA D130038B21 (predicted) (RGD1305890_predicted), mRNA [NM_001014090]	1,11	1,00	1,38
NM_001014255	NM_001014255	Rattus norvegicus similar to Aph1a-pending protein (predicted) (RGD1311546_predicted), mRNA [NM_001014255]	0,88	0,66	1,53
NM_001014258	NM_001014258	Rattus norvegicus similar to chromosome 20 open reading frame 155 (predicted) (RGD1311037_predicted), mRNA [NM_001014258]	1,18	1,31	1,61
NM_001015019	NM_001015019	Rattus norvegicus coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 2 (predicted) (Chchd2_predicted), mRNA [NM_001015019]	1,05	1,18	1,38
NM_001025274	NM_001025274	Rattus norvegicus similar to SR rich protein (predicted) (RGD1307395_predicted), mRNA [NM_001025274]	1,16	1,28	1,25
NM_001025624	NM_001025624	Rattus norvegicus high mobility group protein 17 (Hmgn2), mRNA [NM_001025624]	0,78	0,90	1,22
NM_001025725	NM_001025725	Rattus norvegicus HIRA interacting protein 3 (predicted) (Hirip3_predicted), mRNA [NM_001025725]	1,17	1,12	1,37
NM_001025728	NM_001025728	Rattus norvegicus SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily b, member 1 (predicted) (Smarcb1_predicted), mRNA [NM_001025728]	1,07	0,97	1,34
NM_001029903	NM_001029903	Rattus norvegicus similar to pIL2 hypothetical protein - rat (fragment) (LOC360721), mRNA [NM_001029903]	1,07	1,21	1,37
NM_001030026	NM_001030026	Rattus norvegicus interferon gamma inducible protein 30 (predicted) (Ifi30_predicted), mRNA [NM_001030026]	1,13	1,16	1,78
NM_001030039	NM_001030039	Rattus norvegicus c-src tyrosine kinase (predicted) (Csk_predicted), mRNA [NM_001030039]	1,03	1,06	1,30
NM_201423	NM_201423	Rattus norvegicus UDP glycosyltransferase 1 family polypeptide A2 (Ugt1a2), mRNA [NM_201423]	1,32	1,48	1,63
Nme2	NM_031833	Rattus norvegicus expressed in non-metastatic cells 2 (Nme2), mRNA [NM_031833]	1,00	1,05	1,21
Noc4_predicted	NM_001012165	Rattus norvegicus neighbor of Cox4 (predicted) (Noc4_predicted), mRNA [NM_001012165]	1,14	1,17	1,35
Nono	NM_001012356	Rattus norvegicus non-POU domain containing, octamer-binding (Nono), mRNA [NM_001012356]	0,92	1,13	1,39
Np	XM_214155	PREDICTED: Rattus norvegicus nucleoside phosphorylase (Np), mRNA [XM_214155]	1,05	1,25	2,12
NP798074	NP798074	major histocompatibility complex class I Eu-like protein [Rattus sp.] [NP798074]	1,28	0,85	1,65
Nr2f2	NM_080778	Rattus norvegicus nuclear receptor subfamily 2, group F, member 2 (Nr2f2), mRNA [NM_080778]	10,32	0,93	1,36
Nr4a1	NM_024388	Rattus norvegicus nuclear receptor subfamily 4, group A, member 1 (Nr4a1), mRNA [NM_024388]	0,93	0,99	1,39
Nucb2	NM_021663	Rattus norvegicus nucleobindin 2 (Nucb2), mRNA [NM_021663]	1,06	1,16	1,24
Oazin	NM_022585	Rattus norvegicus ornithine decarboxylase antizyme inhibitor (Oazin), mRNA [NM_022585]	1,02	1,13	1,57
Ogn_predicted	XM_214441	PREDICTED: Rattus norvegicus osteoglycin (predicted) (Ogn_predicted), mRNA [XM_214441]	1,31	1,66	2,49
Ostf1	NM_148892	Rattus norvegicus osteoclast stimulating factor 1 (Ostf1), mRNA [NM_148892]	0,99	1,01	1,27
Pak1	NM_017198	Rattus norvegicus p21 (CDKN1A)-activated kinase 1 (Pak1), mRNA [NM_017198]	1,00	1,15	1,29
Pbef1	NM_177928	Rattus norvegicus pre-B-cell colony enhancing factor 1 (Pbef1), mRNA [NM_177928]	0,98	1,09	1,43
Pcolce	NM_019237	Rattus norvegicus procollagen C-proteinase enhancer protein (Pcolce), mRNA [NM_019237]	1,01	1,18	1,93
Pcyox1	NM_145085	Rattus norvegicus chloride ion pump-associated 55 kDa protein (Pcyox1), mRNA [NM_145085]	1,04	1,06	1,45
Pdcl	NM_022247	Rattus norvegicus phosducin-like (Pdcl), mRNA [NM_022247]	0,98	1,27	1,38
Pdgfra	XM_214030	PREDICTED: Rattus norvegicus platelet derived growth factor receptor, alpha polypeptide (Pdgfra), mRNA [XM_214030]	1,24	1,21	1,67
Pdlim2	NM_001007622	Rattus norvegicus PDZ and LIM domain 2 (Pdlim2), mRNA [NM_001007622]	0,97	1,13	1,27
Pdyn	NM_019374	Rattus norvegicus prodynorphin (Pdyn), mRNA [NM_019374]	1,17	1,37	2,68
Peci	NM_001006966	Rattus norvegicus similar to Peci protein (Peci), mRNA [NM_001006966]	1,20	1,43	1,60
Pgd	XM_342979	PREDICTED: Rattus norvegicus phosphogluconate dehydrogenase (Pgd), mRNA [XM_342979]	1,08	1,11	1,43
Pgk1	NM_053291	Rattus norvegicus phosphoglycerate kinase 1 (Pgk1), mRNA [NM_053291]	1,10	1,35	1,49
Pgrmc1	NM_021766	Rattus norvegicus progesterone receptor membrane component 1 (Pgrmc1), mRNA [NM_021766]	1,34	1,55	2,06
Phax	NM_173133	Rattus norvegicus phosphorylated adaptor for RNA export (Phax), mRNA [NM_173133]	1,05	1,07	1,21
Pla2g12a_predicted	XM_342340	PREDICTED: Rattus norvegicus phospholipase A2, group XIA (predicted) (Pla2g12a_predicted), mRNA [XM_342340]	1,36	1,06	1,25
Plp2	NM_207601	Rattus norvegicus proteolipid protein 2 (Plp2), mRNA [NM_207601]	1,16	1,35	1,81
Podxl	NM_138848	Rattus norvegicus podocalyxin-like (Podxl), mRNA [NM_138848]	0,96	1,08	1,47
Pom210	NM_053322	Rattus norvegicus nuclear pore membrane glycoprotein 210 (Pom210), mRNA [NM_053322]	1,14	1,13	1,26
Pop7_predicted	XM_213733	Rattus norvegicus similar to RPP20 protein (LOC288564), mRNA [XM_213733]	1,00	1,18	1,23

Ppgb_predicted	NM_001011959	Rattus norvegicus protective protein for beta-galactosidase (predicted) (Ppgb_predicted), mRNA [NM_001011959]	0,93	0,95	1,26
Ppgb_predicted	NM_001011959	Rattus norvegicus protective protein for beta-galactosidase (predicted) (Ppgb_predicted), mRNA [NM_001011959]	0,90	0,95	1,39
Ppif	NM_172243	Rattus norvegicus peptidylprolyl isomerase F (cyclophilin F) (Ppif), mRNA [NM_172243]	1,12	1,39	1,62
Ppm1b	NM_033096	Rattus norvegicus protein phosphatase 1B, magnesium dependent, beta isoform (Ppm1b), mRNA [NM_033096]	0,98	1,04	1,23
Ppp1ca	NM_031527	Rattus norvegicus protein phosphatase 1, catalytic subunit, alpha isoform (Ppp1ca), mRNA [NM_031527]	1,02	1,17	1,22
Prdx1	NM_057114	Rattus norvegicus peroxiredoxin 1 (Prdx1), mRNA [NM_057114]	0,94	1,30	1,32
Prdx2	NM_017169	Rattus norvegicus peroxiredoxin 2 (Prdx2), mRNA [NM_017169]	1,00	1,11	1,25
Prdx3	NM_022540	Rattus norvegicus peroxiredoxin 3 (Prdx3), mRNA [NM_022540]	1,53	2,23	2,64
Prep	NM_031324	Rattus norvegicus prolyl endopeptidase (Prep), mRNA [NM_031324]	1,01	0,90	1,31
Prkcdbp	NM_134449	Rattus norvegicus protein kinase C, delta binding protein (Prkcdbp), mRNA [NM_134449]	0,86	0,88	1,31
Prss15	NM_133404	Rattus norvegicus protease, serine, 15 (Prss15), mRNA [NM_133404]	1,00	1,08	1,24
Prss25_predicted	XM_216195	Rattus norvegicus similar to serine protease OMI (LOC297376), mRNA [XM_216195]	0,86	1,01	1,40
Psma5	NM_017282	Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) subunit, alpha type 5 (Psma5), mRNA [NM_017282]	1,02	1,01	1,29
Psmb3	NM_017285	Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type 3 (Psmb3), mRNA [NM_017285]	1,07	1,23	1,30
Psmb8	NM_080767	Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type 8 (Psmb8), mRNA [NM_080767]	1,42	1,44	1,70
Psmb9	NM_012708	Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type 9 (Psmb9), mRNA [NM_012708]	1,08	1,20	1,28
Psm5_predicted	XM_216041	PREDICTED: Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) 26S subunit, non-ATPase, 5 (predicted) (Psm5_predicted), mRNA [XM_216041]	1,13	1,31	1,28
Psme1	NM_017264	Rattus norvegicus protease (prosome, macropain) 28 subunit, alpha (Psme1), mRNA [NM_017264]	1,17	1,15	1,54
Psme2	NM_017257	Rattus norvegicus protease (prosome, macropain) 28 subunit, beta (Psme2), mRNA [NM_017257]	1,00	1,24	1,40
Ptma	NM_021740	Rattus norvegicus prothymosin alpha (Ptma), mRNA [NM_021740]	0,94	0,92	1,66
Ptp4a1	NM_031579	Rattus norvegicus protein tyrosine phosphatase 4a1 (Ptp4a1), mRNA [NM_031579]	1,19	1,34	1,96
Ptpfr	NM_019249	Rattus norvegicus protein tyrosine phosphatase, receptor type, F (Ptpfr), mRNA [NM_019249]	0,96	0,81	1,38
Pts	NM_017220	Rattus norvegicus 6-pyruvoyl-tetrahydropterin synthase (Pts), mRNA [NM_017220]	1,15	1,22	1,37
Pxmp2	NM_031587	Rattus norvegicus peroxisomal membrane protein 2 (Pxmp2), mRNA [NM_031587]	1,18	1,53	1,59
Qdpr	NM_022390	Rattus norvegicus quinoid dihydropteridine reductase (Qdpr), mRNA [NM_022390]	0,91	1,10	1,37
Ranbp3_predicted	XM_576696	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RAN-binding protein 3 (RanBP3) (LOC501281), mRNA [XM_576696]	1,11	1,05	1,26
Rdx	NM_001005889	Rattus norvegicus radixin (Rdx), mRNA [NM_001005889]	0,99	1,08	1,69
Retsat	NM_145084	Rattus norvegicus all-trans-13,14-dihydroretinol saturase (Retsat), mRNA [NM_145084]	1,26	1,57	1,32
RGD:1302955	NM_212532	Rattus norvegicus dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2 (Ddah2), mRNA [NM_212532]	1,09	1,09	1,45
RGD:1303006	NM_212506	Rattus norvegicus MHC class II region expressed gene KE2 (Ke2), mRNA [NM_212506]	1,03	1,08	1,33
RGD:1303043	NM_001002807	Rattus norvegicus chloride intracellular channel 1 (Clc1), mRNA [NM_001002807]	1,00	1,16	1,53
RGD:1303043	NM_001002807	Rattus norvegicus chloride intracellular channel 1 (Clc1), mRNA [NM_001002807]	0,98	0,97	1,68
RGD:1303050	NM_213564	Rattus norvegicus zinc finger and BTB domain containing 9 (Zbtb9), mRNA [NM_213564]	1,14	1,05	1,38
RGD:1303130	NM_001004226	Rattus norvegicus kidney predominant protein NCU-G1 (0610031j06rik), mRNA [NM_001004226]	1,46	1,59	2,11
RGD:1303156	NM_001004231	Rattus norvegicus neural proliferation, differentiation and control, 1 (Npdc1), mRNA [NM_001004231]	1,01	0,99	1,26
RGD:1303174	NM_001004279	Rattus norvegicus peptidylprolyl isomerase D (Ppid), mRNA [NM_001004279]	1,07	1,10	1,44
RGD:1303195	NM_001004211	Rattus norvegicus DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 56 (Ddx56), mRNA [NM_001004211]	1,12	1,17	1,49
RGD:1303232	NM_001004261	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC13047 (MGC94853), mRNA [NM_001004261]	1,03	1,03	1,37
RGD:1303258	NM_206950	Rattus norvegicus MID1 interacting G12-like protein (Mig12), mRNA [NM_206950]	1,17	1,20	2,00
RGD:1303261	NM_207614	Rattus norvegicus P55 (LOC362855), mRNA [NM_207614]	1,30	1,10	1,47
RGD:1303306	NM_212494	Rattus norvegicus divalent cation tolerant protein CUTA (Cuta), mRNA [NM_212494]	1,01	1,12	1,28
RGD:1303312	NM_001004220	Rattus norvegicus electron-transfer-flavoprotein, beta polypeptide (Etfb), mRNA [NM_001004220]	1,04	1,27	1,48
RGD:620896	NM_134459	Rattus norvegicus MIC2 like 1 (Mic2l1), mRNA [NM_134459]	1,00	1,05	1,44
RGD:621380	NM_001008768	Rattus norvegicus DNA primase, p49 subunit (Prim1), mRNA [NM_001008768]	0,86	0,88	1,24
RGD:621508	NM_031565	Rattus norvegicus carboxylesterase 1 (Ces1), mRNA [NM_031565]	1,13	1,16	1,48
RGD:621692	NM_134395	Rattus norvegicus P11 protein (Cdtw1), mRNA [NM_134395]	1,15	1,27	1,42
RGD:628903	AY064511	Rattus norvegicus putative UA20 protein (Ua20) mRNA, complete cds. [AY064511]	1,02	1,37	1,54
RGD:708363	NM_173123	Rattus norvegicus cytochrome P450 4F4 (Cyp4f4), mRNA [NM_173123]	1,22	1,64	1,60
RGD:708514	NM_153734	Rattus norvegicus cystatin TE-1 (LOC266776), mRNA [NM_153734]	1,13	1,03	1,54
RGD:735029	NM_199493	Rattus norvegicus similar to Hypothetical protein KIAA0141 (MGC72566), mRNA [NM_199493]	0,86	0,92	1,22
RGD:735139	BC062391	Rattus norvegicus CG6210-like, mRNA (cDNA clone MGC:72636 IMAGE:5621215), complete cds. [BC062391]	1,32	1,50	2,41
RGD1304587_predicted	XM_220532	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2310033P09 (predicted) (RGD1304587_predicted), mRNA [XM_220532]	1,05	1,03	1,31
RGD1305020_predicted	XM_230785	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Hepatocellular carcinoma-associated antigen 58 homolog (predicted) (LOC311575), mRNA [XM_230785]	0,99	1,03	1,24
RGD1305283_predicted	XM_343501	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2010110K16 (predicted) (LOC363162), mRNA [XM_343501]	0,98	1,01	1,23

RGD1305593_predicted	XM_213716	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1810042K04 (predicted) (LOC288513), mRNA [XM_213716]	1,08	1,23	1,26
RGD1305687_predicted	XM_237786	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to D11Bwg0434e protein (predicted) (LOC287453), mRNA [XM_237786]	0,90	0,89	1,25
RGD1306592_predicted	XM_345164	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Agrin (predicted) (LOC365691), mRNA [XM_345164]	0,98	1,31	1,43
RGD1306952_predicted	NM_001008770	Rattus norvegicus similar to Ab2-225 (predicted) (RGD1306952_predicted), mRNA [NM_001008770]	1,43	1,99	2,20
RGD1306974_predicted	XM_341005	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 5830458K16Rik protein (predicted) (LOC360733), mRNA [XM_341005]	1,48	1,49	1,82
RGD1307129_predicted	XM_343337	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1110020C13 (LOC363004), mRNA [XM_343337]	1,10	1,31	1,72
RGD1307279_predicted	NM_001008343	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2700002I20 (predicted) (RGD1307279_predicted), mRNA [NM_001008343]	1,06	1,22	1,39
RGD1307506_predicted	XM_215486	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2310016C16 (predicted) (LOC294744), mRNA [XM_215486]	1,07	1,25	1,62
RGD1307583_predicted	XM_341397	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to LOC361111 (predicted) (LOC361111), mRNA [XM_341397]	0,91	1,00	1,39
RGD1307610_predicted	XM_342871	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ10770 (LOC362551), mRNA [XM_342871]	1,02	1,77	2,30
RGD1308064_predicted	XM_214293	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to FKSG24 (predicted) (LOC290645), mRNA [XM_214293]	0,81	0,98	1,31
RGD1308093_predicted	XM_341309	Rattus norvegicus similar to FLJ00128 protein (LOC361034), mRNA [XM_341309]	1,14	1,18	1,87
RGD1308383_predicted	XM_343103	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 2900070E19Rik protein (predicted) (LOC362776), mRNA [XM_343103]	1,15	1,29	1,31
RGD1308696_predicted	NM_001008278	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein D11Erd497e (predicted) (RGD1308696_predicted), mRNA [NM_001008278]	1,06	0,99	1,23
RGD1308876_predicted	XM_342915	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 2610027C15Rik protein (predicted) (LOC362597), mRNA [XM_342915]	1,03	0,93	1,40
RGD1309570_predicted	XM_342122	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to mKIAA0376 protein (predicted) (LOC361828), mRNA [XM_342122]	1,04	1,09	1,28
RGD1309623_predicted	XM_215017	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC293181 (predicted) (LOC293181), mRNA [XM_215017]	1,10	1,21	2,01
RGD1309695_predicted	XM_216272	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to C10 (predicted) (LOC297591), mRNA [XM_216272]	1,14	1,15	1,77
RGD1309934_predicted	XM_341328	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Smhs2 homolog (predicted) (LOC361048), mRNA [XM_341328]	0,87	1,16	1,32
RGD1309998_predicted	XM_345942	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Chain A, Solution Structure Of The Bola-Like Protein From Mus Musculus (predicted) (LOC367088), mRNA [XM_345942]	1,10	1,13	1,21
RGD1310159_predicted	XM_222190	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to acetyl-coA dehydrogenase -related (111.6 kD) (5G231) (predicted) (LOC304500), mRNA [XM_222190]	0,96	0,71	1,20
RGD1310648_predicted	XM_213659	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Fat cell-specific low molecular weight protein (Fat tissue-specific low MW protein) (predicted) (LOC288271), mRNA [XM_213659]	1,72	2,50	4,41
RGD1310660_predicted	NM_001009316	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2700038C09 (predicted) (RGD1310660_predicted), mRNA [NM_001009316]	0,94	1,00	1,58
RGD1310725_predicted	XM_216137	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC297077 (predicted) (LOC297077), mRNA [XM_216137]	1,22	1,67	2,55
RGD1311005_predicted	XM_341099	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to J-type co-chaperone HSC20 (predicted) (LOC360826), mRNA [XM_341099]	0,95	0,75	1,26
RGD1311399_predicted	XM_216527	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 6330579B17 gene (predicted) (LOC298490), mRNA [XM_216527]	1,09	1,16	1,30
RGD1311605_predicted	XM_216650	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to apoptosis related protein APR-3; p18 protein (predicted) (LOC298841), mRNA [XM_216650]	0,83	0,99	1,29
Rhbg	NM_183054	Rattus norvegicus Rhesus blood group-associated B glycoprotein (Rhbg), mRNA [NM_183054]	1,23	1,69	1,54
Rnaset2_predicted	XM_214769	PREDICTED: Rattus norvegicus ribonuclease T2 (predicted) (Rnaset2_predicted), mRNA [XM_214769]	1,22	1,34	1,59
Rnh1	NM_139105	Rattus norvegicus ribonuclease/angiogenin inhibitor 1 (Rnh1), mRNA [NM_139105]	1,11	1,27	1,48
Rpl10	NM_031100	Rattus norvegicus ribosomal protein L10 (Rpl10), mRNA [NM_031100]	0,97	1,11	1,95
Rpl10	NM_031100	Rattus norvegicus ribosomal protein L10 (Rpl10), mRNA [NM_031100]	1,33	1,20	2,05
Rpl13	NM_031101	Rattus norvegicus ribosomal protein L13 (Rpl13), mRNA [NM_031101]	0,97	0,95	1,22
Rpl13a	NM_173340	Rattus norvegicus ribosomal protein L13A (Rpl13a), mRNA [NM_173340]	1,08	1,03	1,57
Rpl14	NM_022949	Rattus norvegicus ribosomal protein L14 (Rpl14), mRNA [NM_022949]	0,96	0,94	1,27
Rpl19	NM_031103	Rattus norvegicus ribosomal protein L19 (Rpl19), mRNA [NM_031103]	0,91	0,98	1,43
Rpl23	NM_001007599	Rattus norvegicus ribosomal protein L23 (Rpl23), mRNA [NM_001007599]	0,95	1,07	1,41
Rpl26_predicted	XM_213346	PREDICTED: Rattus norvegicus ribosomal protein L26 (predicted) (Rpl26_predicted), mRNA [XM_213346]	0,94	0,97	1,32
Rpl26_predicted	XM_213346	PREDICTED: Rattus norvegicus ribosomal protein L26 (predicted) (Rpl26_predicted), mRNA [XM_213346]	1,11	1,16	1,84
Rpl35	NM_212511	Rattus norvegicus ribosomal protein L35 (Rpl35), mRNA [NM_212511]	0,86	1,06	1,45
Rpl39	NM_012875	Rattus norvegicus ribosomal protein L39 (Rpl39), mRNA [NM_012875]	1,07	1,24	2,02
Rpl6	NM_053971	Rattus norvegicus ribosomal protein L6 (Rpl6), mRNA [NM_053971]	1,17	1,01	1,38
Rpl7	XM_216318	PREDICTED: Rattus norvegicus ribosomal protein L7 (Rpl7), mRNA [XM_216318]	1,02	1,04	1,28
Rpl9	NM_001007598	Rattus norvegicus ribosomal protein L9 (Rpl9), mRNA [NM_001007598]	0,90	0,96	1,30
Rplp1	BF394986	UI-R-CM0-bjg-c-03-0-UI.s1 UI-R-CM0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CM0-bjg-c-03-0-UI 3', mRNA sequence [BF394986]	0,98	1,06	1,38
Rps11	BI281110	UI-R-DD0-bzr-d-03-0-UI.s1 UI-R-DD0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-DD0-bzr-d-03-0-UI 3', mRNA sequence [BI281110]	1,19	1,08	1,24
Rps15a	NM_053982	Rattus norvegicus ribosomal protein S15a (Rps15a), mRNA [NM_053982]	1,03	1,05	1,21
Rps16	XM_341815	PREDICTED: Rattus norvegicus ribosomal protein S16 (Rps16), mRNA [XM_341815]	0,94	1,01	1,24
Rps17	NM_017152	Rattus norvegicus ribosomal protein S17 (Rps17), mRNA [NM_017152]	0,95	0,97	1,26
Rps2	NM_031838	Rattus norvegicus ribosomal protein S2 (Rps2), mRNA [NM_031838]	1,05	1,12	1,35
Rps27	NM_053597	Rattus norvegicus ribosomal protein S27 (Rps27), mRNA [NM_053597]	0,90	0,98	1,32
Rps3	NM_001009239	Rattus norvegicus ribosomal protein S3 (Rps3), mRNA [NM_001009239]	0,91	1,02	1,25
Rps4x	NM_001007600	Rattus norvegicus ribosomal protein S4, X-linked (Rps4x), mRNA [NM_001007600]	1,08	1,19	1,76
Rps6kb1	NM_031985	Rattus norvegicus ribosomal protein S6 kinase, polypeptide 1 (Rps6kb1), mRNA [NM_031985]	1,12	1,14	1,27

Rps8	NM_031706	Rattus norvegicus ribosomal protein S8 (Rps8), mRNA [NM_031706]	1,00	1,05	1,30
RT1-A2	NM_001008829	Rattus norvegicus RT1 class Ia, locus A2 (RT1-A2), mRNA [NM_001008829]	1,13	1,22	1,32
RT1-A2	NM_001008829	Rattus norvegicus RT1 class Ia, locus A2 (RT1-A2), mRNA [NM_001008829]	1,11	1,09	1,38
RT1-Aw2	Y13890	Rattus norvegicus mRNA for mature MHC class Ib alpha chain. [Y13890]	1,13	1,25	1,33
RT1-Aw2	NM_012645	Rattus norvegicus RT1 class Ib, locus Aw2 (RT1-Aw2), mRNA [NM_012645]	0,98	1,07	1,38
RT1-Aw2	M24324	Rat MHC class I RT1 (RTS) mRNA (u haplotype), 3' end. [M24324]	1,10	1,24	1,51
RT1-Bb	NM_001004084	Rattus norvegicus RT1 class II, locus Bb (RT1-Bb), mRNA [NM_001004084]	1,32	0,69	2,43
RT1-CE1	NM_001008832	Rattus norvegicus RT1 class I, CE1 (RT1-CE1), mRNA [NM_001008832]	1,24	1,01	1,55
RT1-CE12	XM_227986	Rattus norvegicus similar to MHC class I protein (LOC309600), mRNA [XM_227986]	1,26	1,09	1,37
RT1-CE12	NM_001008835	Rattus norvegicus RT1 class I, CE12 (RT1-CE12), mRNA [NM_001008835]	1,25	1,06	1,56
RT1-CE5	NM_001008843	Rattus norvegicus RT1 class I, CE5 (RT1-CE5), mRNA [NM_001008843]	1,38	1,12	1,33
RT1-CI	NM_206848	Rattus norvegicus RT1 class Ib, locus CI (RT1-CI), mRNA [NM_206848]	1,28	0,96	1,29
RT1-CI	NM_206848	Rattus norvegicus RT1 class Ib, locus CI (RT1-CI), mRNA [NM_206848]	1,30	1,19	1,50
RT1-M6-2	NM_001008853	Rattus norvegicus RT1 class I, M6, gene 2 (RT1-M6-2), mRNA [NM_001008853]	1,24	0,99	1,51
RT1-S3	XM_215303	PREDICTED: Rattus norvegicus RT1 class Ib, locus S3 (RT1-S3), mRNA [XM_215303]	1,04	1,04	1,40
S100a10	NM_031114	Rattus norvegicus S100 calcium binding protein A10 (calpactin) (S100a10), mRNA [NM_031114]	0,97	1,03	1,37
S100a16_predicted	XM_342291	PREDICTED: Rattus norvegicus S100 calcium binding protein A16 (predicted) (S100a16_predicted), mRNA [XM_342291]	1,30	1,30	1,56
S63167	S63167	3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isomerase type II.2 [rats, liver, mRNA, 2675 nt]. [S63167]	1,00	1,08	1,22
S77858	S77858	non-muscle myosin alkali light chain [rats, Sprague-Dawley, new-born, heart ventricle, mRNA, 613 nt]. [S77858]	1,08	1,14	1,28
Sara2_predicted	NM_001009622	Rattus norvegicus SAR1a gene homolog 2 (S. cerevisiae) (predicted) (Sara2_predicted), mRNA [NM_001009622]	1,02	1,05	1,39
Sat	NM_001007667	Rattus norvegicus spermidine/spermine N1-acetyl transferase (Sat), mRNA [NM_001007667]	1,44	2,17	2,13
Sc4mol	NM_080886	Rattus norvegicus sterol-C4-methyl oxidase-like (Sc4mol), mRNA [NM_080886]	1,13	1,83	4,41
Scarb1	NM_031541	Rattus norvegicus scavenger receptor class B, member 1 (Scarb1), mRNA [NM_031541]	1,84	2,57	4,37
Scd2	NM_031841	Rattus norvegicus stearoyl-Coenzyme A desaturase 2 (Scd2), mRNA [NM_031841]	1,13	1,19	1,92
Scp2	NM_138508	Rattus norvegicus sterol carrier protein 2 (Scp2), mRNA [NM_138508]	1,28	1,14	1,42
Scpep1	NM_133383	Rattus norvegicus serine carboxypeptidase 1 (Scpep1), mRNA [NM_133383]	1,37	1,47	2,12
Sdhb_predicted	XM_216558	PREDICTED: Rattus norvegicus succinate dehydrogenase complex, subunit B, iron sulfur (lp) (predicted) (Sdhb_predicted), mRNA [XM_216558]	1,14	1,21	1,25
Sdhd	NM_198788	Rattus norvegicus succinate dehydrogenase complex, subunit D, integral membrane protein (Sdhd), mRNA [NM_198788]	0,98	1,08	1,21
Sec61b_predicted	XM_216400	PREDICTED: Rattus norvegicus Sec61 beta subunit (predicted) (Sec61b_predicted), mRNA [XM_216400]	0,94	1,11	1,48
Secisbp2	NM_024002	Rattus norvegicus SECIS binding protein 2 (Secisbp2), mRNA [NM_024002]	1,11	1,16	1,22
Selenbp1	NM_080892	Rattus norvegicus selenium binding protein 2 (Selenbp1), mRNA [NM_080892]	1,27	1,17	1,46
Sftpc	NM_017342	Rattus norvegicus surfactant associated protein C (Sftpc), mRNA [NM_017342]	1,27	1,47	1,50
Slc1a3	NM_019225	Rattus norvegicus solute carrier family 1 (glial high affinity glutamate transporter), member 3 (Slc1a3), mRNA [NM_019225]	1,22	1,39	1,62
Slc22a17	NM_177421	Rattus norvegicus solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 17 (Slc22a17), mRNA [NM_177421]	0,86	0,87	1,40
Slc25a28_predicted	XM_215249	Rattus norvegicus similar to putative mitochondrial solute carrier (LOC293957), mRNA [XM_215249]	0,97	1,08	1,23
Slc25a3	NM_139100	Rattus norvegicus solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; adenine nucleotide translocator), member 3 (Slc25a3), mRNA [NM_139100]	1,08	1,25	1,61
Slc25a30	AY724532	Rattus norvegicus clone UI-R-FJ0-cqa-n-24-0-UI unknown mRNA. [AY724532]	0,92	1,12	2,02
Slc27a3_predicted	XM_215605	PREDICTED: Rattus norvegicus solute carrier family 27 (fatty acid transporter), member 3 (predicted) (Slc27a3_predicted), mRNA [XM_215605]	1,26	1,55	1,86
Slc29a1	NM_031684	Rattus norvegicus solute carrier family 29 (nucleoside transporters), member 1 (Slc29a1), mRNA [NM_031684]	1,01	1,12	1,29
Slc39a8_predicted	NM_001011952	Rattus norvegicus solute carrier family 39 (metal ion transporter), member 8 (predicted) (Slc39a8_predicted), mRNA [NM_001011952]	1,08	1,01	1,35
Slc7a8	NM_053442	Rattus norvegicus solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 8 (Slc7a8), mRNA [NM_053442]	0,97	1,37	1,93
Snf1lk	NM_021693	Rattus norvegicus SNF1-like kinase (Snf1lk), mRNA [NM_021693]	0,77	0,72	1,78
Sod1	BM391104	UI-R-CN1-cjr-j-02-0-UI.s1 UI-R-CN1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CN1-cjr-j-02-0-UI 3', mRNA sequence [BM391104]	0,96	1,12	1,36
Sod1	BM391104	UI-R-CN1-cjr-j-02-0-UI.s1 UI-R-CN1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CN1-cjr-j-02-0-UI 3', mRNA sequence [BM391104]	1,01	1,21	1,39
Sod3	NM_012880	Rattus norvegicus superoxide dismutase 3, extracellular (Sod3), mRNA [NM_012880]	1,08	1,15	1,78
Spp1	NM_012881	Rattus norvegicus secreted phosphoprotein 1 (Spp1), mRNA [NM_012881]	1,53	2,06	1,87
Ssbp1	NM_183328	Rattus norvegicus single-stranded DNA binding protein 1 (Ssbp1), mRNA [NM_183328]	1,05	1,16	1,22
Ssh3_predicted	NM_001012217	Rattus norvegicus slingshot homolog 3 (Drosophila) (predicted) (Ssh3_predicted), mRNA [NM_001012217]	1,27	1,23	2,13
Ssr3	NM_031120	Rattus norvegicus signal sequence receptor, gamma (Ssr3), mRNA [NM_031120]	0,96	0,85	1,62
Stab2	AY007370	Rattus norvegicus hyaluronan receptor for endocytosis HARE precursor, mRNA, partial cds. [AY007370]	1,30	1,14	1,42
Star	NM_031558	Rattus norvegicus steroidogenic acute regulatory protein (Star), mRNA [NM_031558]	2,00	3,25	7,45
Stat3	NM_012747	Rattus norvegicus signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3), mRNA [NM_012747]	1,51	1,12	1,50
Stoml2_predicted	XM_216439	PREDICTED: Rattus norvegicus stomatin (Epb7.2)-like 2 (predicted) (Stoml2_predicted), mRNA [XM_216439]	1,05	1,16	1,26
Sts	NM_012661	Rattus norvegicus steroid sulfatase (Sts), mRNA [NM_012661]	0,98	1,19	1,46
Stx4a	NM_031125	Rattus norvegicus syntaxin 4A (placental) (Stx4a), mRNA [NM_031125]	0,99	1,07	1,55

Surf4_predicted	XM_216028	Rattus norvegicus similar to Surf-4 protein - mouse (LOC296598), mRNA [XM_216028]	0,97	0,94	1,21
Susd3_predicted	XM_225203	PREDICTED: Rattus norvegicus sushi domain containing 3 (predicted) (Susd3_predicted), mRNA [XM_225203]	1,03	1,12	1,45
Sv2b	NM_057207	Rattus norvegicus synaptic vesicle glycoprotein 2b (Sv2b), mRNA [NM_057207]	2,96	3,25	1,33
Svs5	NM_133516	Rattus norvegicus seminal vesicle secretion 5 (Svs5), mRNA [NM_133516]	1,38	4,15	6,69
Taldo1	NM_031811	Rattus norvegicus transaldolase 1 (Taldo1), mRNA [NM_031811]	0,98	1,12	1,65
Tbc1d12_predicted	XM_220062	PREDICTED: Rattus norvegicus TBC1D12: TBC1 domain family, member 12 (predicted) (Tbc1d12_predicted), mRNA [XM_220062]	1,08	0,98	1,25
TC517732	TC517732	Q6URK4 (Q6URK4) Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3 variant a, complete [TC517732]	1,10	1,08	1,20
TC517749	TC517749	Q7WNI5 (Q7WNI5) LysR-family transcriptional regulator, partial (5%) [TC517749]	1,15	1,27	1,83
TC519463	TC519463	Q8BZ40 (Q8BZ40) Mus musculus adult male bone cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:9830169C09 product:ALANYL-TRNA SYNTHETASE (ALANINE--TRNA LIGASE) (ALARS) homolog , partial (12%) [TC519463]	0,95	1,15	1,22
TC519876	TC519876	KRAC_MOUSE (P31750) RAC-alpha serine/threonine-protein kinase (RAC-PK-alpha) (AKT1 kinase) (Protein kinase B) (PKB) (C-AKT) (Thymoma viral proto-oncogene) , partial (19%) [TC519876]	0,95	0,93	1,48
TC520529	TC520529	O33745 (O33745) Thiosterase, partial (5%) [TC520529]	0,83	0,85	1,27
TC522573	TC522573	Q8MRL6 (Q8MRL6) GH20547p (CG32295-PA), partial (7%) [TC522573]	1,12	1,18	1,25
TC523222	TC523222	Unknown	0,96	1,01	1,36
TC529410	TC529410	Unknown	1,23	0,82	1,27
TC534940	TC534940	Q7TQ12 (Q7TQ12) Aa1114, partial (10%) [TC534942]	1,05	1,10	1,50
TC535772	TC535772	ACTY_MOUSE (Q8R5C5) Beta-centractin (Actin-related protein 1B) (ARP1B), complete [TC535772]	1,02	1,05	1,32
TC535896	TC535896	Q7TP86 (Q7TP86) Ab1-331, complete [TC535896]	0,94	1,04	1,32
TC536030	TC536030	Unknown	1,19	1,49	1,73
TC536420	TC536420	Unknown	1,21	1,45	1,46
TC536663	TC536663	Unknown	0,99	0,97	1,23
TC536843	TC536843	B2MG_XENLA (Q9IA97) Beta-2-microglobulin precursor, partial (11%) [TC536843]	1,10	0,99	1,37
TC538008	TC538008	JAK2_RAT (Q62689) Tyrosine-protein kinase JAK2 (Janus kinase 2) (JAK-2) , partial (8%) [TC538008]	1,19	1,47	1,92
TC538314	TC538314	Q7U713 (Q7U713) Uracil-DNA glycosylase , partial (6%) [TC538314]	0,96	1,17	1,31
TC539546	TC539546	Q6PIU7 (Q6PIU7) Solute carrier family 37 (Glycerol-3-phosphate transporter), member 3, isoform 1, partial (38%) [TC539546]	1,08	1,01	1,21
TC541630	TC541630	Unknown	1,21	0,92	1,61
TC544349	TC544349	Unknown	0,85	0,85	1,27
TC546813	TC546813	MUSGPBLS G protein beta subunit like {Mus musculus;} , partial (20%) [TC546813]	1,09	1,15	1,47
TC549054	TC549054	MUSPURNU2P purine nucleoside phosphorylase {Mus musculus;} , partial (15%) [TC549054]	0,98	1,24	1,62
TC549847	TC549847	Unknown	1,27	1,18	1,62
TC551725	TC551725	Q7QFG1 (Q7QFG1) AgCP13522 (Fragment), partial (3%) [TC551806]	0,83	1,33	1,41
TC551904	TC551904	Q7TQ12 (Q7TQ12) Aa1114, partial (10%) [TC551904]	1,10	1,10	1,33
TC551923	TC551923	Q80V97 (Q80V97) Itga9 protein (Fragment), partial (67%) [TC551923]	0,95	0,90	1,39
TC552207	TC552207	BC000702 MTCH1 protein {Homo sapiens;} , partial (48%) [TC552207]	1,24	1,35	1,53
TC553160	TC553160	HSU12404 Csa-19 {Homo sapiens;} , partial (8%) [TC553160]	1,04	1,34	1,92
TC555263	TC555263	Unknown	1,11	1,05	1,51
TC556068	TC556068	Unknown	0,94	0,91	1,24
TC556078	TC556078	Unknown	1,28	1,49	1,90
TC556584	TC556584	Unknown	1,11	1,19	1,34
TC556692	TC556692	Unknown	1,23	1,46	1,95
TC557339	TC557339	Unknown	1,03	1,15	1,44
TC557416	TC557416	Q7TQ12 (Q7TQ12) Aa1114, partial (9%) [TC557416]	1,10	1,07	1,22
TC558531	TC558531	Unknown	1,22	1,06	1,23
Tde2	NM_182951	Rattus norvegicus tumor differentially expressed 1, like (Tde2), mRNA [NM_182951]	0,94	0,87	1,40
Timp1	NM_053819	Rattus norvegicus tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (Timp1), mRNA [NM_053819]	1,42	1,84	5,76
Tkt	NM_022592	Rattus norvegicus transketolase (Tkt), mRNA [NM_022592]	1,38	1,46	2,82
Tmem14a_predicted	XM_343546	PREDICTED: Rattus norvegicus transmembrane protein 14A (predicted) (Tmem14a_predicted), mRNA [XM_343546]	1,18	1,47	1,98
Tnfrsf1a	NM_013091	Rattus norvegicus tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1a (Tnfrsf1a), mRNA [NM_013091]	0,95	0,96	1,30
Tpt1	NM_053867	Rattus norvegicus tumor protein, translationally-controlled 1 (Tpt1), mRNA [NM_053867]	1,04	1,08	1,32
Tpt1	NM_053867	Rattus norvegicus tumor protein, translationally-controlled 1 (Tpt1), mRNA [NM_053867]	0,99	1,10	1,42
Tpt1	NM_053867	Rattus norvegicus tumor protein, translationally-controlled 1 (Tpt1), mRNA [NM_053867]	1,13	1,19	1,53
Tradd	XM_341671	PREDICTED: Rattus norvegicus TNFRSF1A-associated via death domain (Tradd), mRNA [XM_341671]	1,12	1,03	1,54
Txn1	NM_053800	Rattus norvegicus thioredoxin 1 (Txn1), mRNA [NM_053800]	1,15	1,22	1,60
Txndc5_predicted	XM_225257	PREDICTED: Rattus norvegicus thioredoxin domain containing 5 (predicted) (Txndc5_predicted), mRNA [XM_225257]	1,07	1,32	2,14
Uqcrb_predicted	XM_343225	PREDICTED: Rattus norvegicus ubiquinol-cytochrome c reductase binding protein (predicted) (Uqcrb_predicted), mRNA [XM_343225]	1,11	1,10	1,21

Vdac1	NM_031353	Rattus norvegicus voltage-dependent anion channel 1 (Vdac1), mRNA [NM_031353]	1,09	1,19	1,22
Vezf1_predicted	XM_213421	PREDICTED: Rattus norvegicus vascular endothelial zinc finger 1 (predicted) (Vezf1_predicted), mRNA [XM_213421]	1,19	1,20	1,40
Wfdc1	NM_133581	Rattus norvegicus WAP four-disulfide core domain 1 (Wfdc1), mRNA [NM_133581]	0,89	0,96	1,46
X82202	X82202	RNL19RP R.norvegicus RPL19 gene [X82202]	0,92	1,02	1,41
XM_214503	XM_214503	PREDICTED: Rattus norvegicus G protein-binding protein CRFG (Gtpbp4), mRNA [XM_214503]	1,24	1,33	1,60
XM_216335	XM_216335	Rattus norvegicus similar to Myosin light chain alkali, smooth-muscle isoform (MLC3SM) (LOC297831), mRNA [XM_216335]	0,97	1,06	1,22
XM_220318	XM_220318	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein S2 (LOC287207), mRNA [XM_220318]	1,15	1,11	1,25
XM_222276	XM_222276	Rattus norvegicus similar to ATP synthase lipid-binding protein, mitochondrial precursor (ATP synthase proteolipid P1) (ATPase protein 9) (ATPase subunit C) (LOC288738), mRNA [XM_222276]	1,19	1,40	1,47
XM_222435	XM_222435	Rattus norvegicus similar to 40S ribosomal protein S8 (LOC288882), mRNA [XM_222435]	1,04	1,13	1,45
XM_223490	XM_223490	Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L10 (QM protein homolog) (LOC289691), mRNA [XM_223490]	0,97	1,08	1,99
XM_223646	XM_223646	Rattus norvegicus similar to 40S ribosomal protein S2 (LOC289818), mRNA [XM_223646]	0,95	1,07	1,25
XM_228958	XM_228958	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L19 (LOC317497), mRNA [XM_228958]	0,91	1,10	1,52
XM_342901	XM_342901	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L10a (LOC362582), mRNA [XM_342901]	1,04	1,06	1,32
XM_343856	XM_343856	PREDICTED: Rattus norvegicus LPS-induced TNF-alpha factor (Litaf), mRNA [XM_343856]	1,20	1,36	2,02
XM_344680	XM_344680	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein S2 (LOC364866), mRNA [XM_344680]	1,01	1,08	1,25
XM_345191	XM_345191	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L30 (LOC365749), mRNA [XM_345191]	1,05	1,03	1,59
XM_345520	XM_345520	Rattus norvegicus similar to Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 (Helix-destabilizing protein) (Single-strand binding protein) (hnRNP core protein A1) (HDP) (LOC366356), mRNA [XM_345520]	1,00	0,50	1,49
XM_346120	XM_346120	Rattus norvegicus similar to Liver carboxylesterase 1 precursor (Carboxylesterase ES-1) (E1) (ES-THET) (LOC367389), mRNA [XM_346120]	1,22	1,56	1,27
XM_573460	XM_573460	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to U2 small nuclear ribonucleoprotein B (LOC363994), mRNA [XM_573460]	0,84	0,91	1,24
XM_573466	XM_573466	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to LRRGT00191 (LOC498244), mRNA [XM_573466]	1,03	1,09	1,33
XM_573648	XM_573648	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to mitochondrial ribosomal protein S24 (LOC498406), mRNA [XM_573648]	1,10	1,29	1,52
XM_573679	XM_573679	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to NADH dehydrogenase (ubiquinone) Fe-S protein 5 (LOC498428), mRNA [XM_573679]	0,96	1,12	1,48
XM_574072	XM_574072	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to isopentenyl diphosphate delta-isomerase type 2 (LOC498787), mRNA [XM_574072]	0,90	1,02	1,35
XM_574138	XM_574138	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein S2 (LOC498853), mRNA [XM_574138]	1,09	1,08	1,36
XM_574850	XM_574850	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Phosphoglycerate kinase 1 (LOC499525), mRNA [XM_574850]	1,34	1,58	2,55
XM_574957	XM_574957	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Aldose reductase-related protein 2 (AR) (Aldehyde reductase) (Fibroblast growth factor regulated protein) (FR-1 protein) (LOC499634), mRNA [XM_574957]	1,02	1,04	2,58
XM_575149	XM_575149	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L7a (LOC499809), mRNA [XM_575149]	1,01	1,14	1,28
XM_575149	XM_575149	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L7a (LOC499809), mRNA [XM_575149]	1,03	1,03	1,37
XM_575152	XM_575152	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC499812 (LOC499812), mRNA [XM_575152]	1,06	1,38	2,47
XM_575356	XM_575356	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to A-kinase anchor protein 9 (LOC500003), mRNA [XM_575356]	1,09	1,24	1,21
XM_575451	XM_575451	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to cell division cycle 42 (LOC500100), mRNA [XM_575451]	1,03	1,13	1,23
XM_575579	XM_575579	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NAD) (EC 1.5.1.15) / methylenetetrahydrofolate cyclohydrolase (EC 3.5.4.9) precursor - mouse (LOC500228), mRNA [XM_575579]	0,96	1,32	1,35
XM_575616	XM_575616	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to TAF1 protein (LOC500266), mRNA [XM_575616]	1,18	1,09	1,34
XM_575758	XM_575758	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to LRRGT00126 (LOC366304), mRNA [XM_575758]	1,02	0,83	1,35
XM_575864	XM_575864	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L19 (LOC366418), mRNA [XM_575864]	1,09	1,06	1,59
XM_575909	XM_575909	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L37a (LOC500547), mRNA [XM_575909]	1,00	1,08	1,55
XM_575909	XM_575909	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60S ribosomal protein L37a (LOC500547), mRNA [XM_575909]	0,97	1,06	1,62
XM_576039	XM_576039	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Glutathione S-transferase 8 (GST 8-8) (Chain 8) (GST class-alpha) (LOC500661), mRNA [XM_576039]	1,12	1,49	1,39
XM_576310	XM_576310	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2510038A11 (LOC500907), mRNA [XM_576310]	0,95	1,10	1,27
XM_577005	XM_577005	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 40S ribosomal protein S2 (LOC501605), mRNA [XM_577005]	1,03	1,07	1,41
XM_577041	XM_577041	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Ferritin light chain 2 (Ferritin L subunit 2) (Ferritin subunit LG) (LOC501644), mRNA [XM_577041]	1,07	1,13	1,29
XM_579917	XM_579917	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC499125 (LOC499125), mRNA [XM_579917]	1,20	1,10	1,23
Y17323	Y17323	Rattus norvegicus CDK109 mRNA. [Y17323]	1,20	0,98	1,31
Yc2	NM_001009920	Rattus norvegicus glutathione S-transferase Yc2 subunit (Yc2), mRNA [NM_001009920]	1,42	1,68	2,13
Zadh2_predicted	XM_214526	PREDICTED: Rattus norvegicus zinc binding alcohol dehydrogenase, domain containing 2 (predicted) (Zadh2_predicted), mRNA [XM_214526]	1,09	1,08	1,25
Zbtb7	NM_054002	Rattus norvegicus leukemia/lymphoma related factor (Zbtb7), mRNA [NM_054002]	1,01	1,09	1,32
Zfp361	NM_017172	Rattus norvegicus zinc finger protein 36, C3H type-like 1 (Zfp361), mRNA [NM_017172]	0,89	1,04	1,40

2.6 Liste des transcrits sous-accumulés à 150 mg/kg/j

GeneName	SystematicName	Description	Ratio 6	Ratio 30	Ratio 150
A_44_P128757	A_44_P128757	Unknown	1,12	2,42	0,67
A_44_P199343	A_44_P199343	Unknown	0,92	1,04	0,78
A_44_P293405	A_44_P293405	Unknown	0,89	0,93	0,74
A_44_P433942	A_44_P433942	Unknown	1,29	0,95	0,77
A_44_P471217	A_44_P471217	Unknown	1,07	0,92	0,80
A_44_P513587	A_44_P513587	Unknown	0,87	0,88	0,75
A_44_P591036	A_44_P591036	Unknown	1,08	1,07	0,72
A_44_P744956	A_44_P744956	Unknown	0,97	1,01	0,78
A_44_P770432	A_44_P770432	Unknown	0,93	0,95	0,79
A_44_P806023	A_44_P806023	Unknown	0,86	0,87	0,81
A_44_P806713	A_44_P806713	Unknown	1,23	1,11	0,80
A_44_P821792	A_44_P821792	Unknown	0,89	0,92	0,78
A_44_P821841	A_44_P821841	Unknown	0,94	0,95	0,78
A_44_P937542	A_44_P937542	Unknown	0,80	1,09	0,61
A_44_P959588	A_44_P959588	Unknown	0,87	0,92	0,65
AA850031	AA850031	AA850031 EST192798 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone ROVAB02 3' end, mRNA sequence [AA850031]	0,92	0,92	0,61
AA944116	AA944116	AA944116 EST199615 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone REMAB46 5' end similar to histone H2a, mRNA sequence [AA944116]	1,07	1,06	0,82
AA946063	AA946063	AA946063 EST201562 Normalized rat lung, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RLUBA76 3' end, mRNA sequence [AA946063]	0,87	0,98	0,82
AA955357	AA955357	AA955357 UI-R-A1-ey-b-08-0-UI.s1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-ey-b-08-0-UI 3' similar to gi [AA955357]	0,93	0,92	0,59
Abtb1	NM_001005902	Rattus norvegicus ankyrin repeat and BTB (POZ) domain containing 1 (Abtb1), mRNA [NM_001005902]	1,13	1,17	0,74
Acdc	NM_144744	Rattus norvegicus adipocyte complement related protein of 30 kDa (Acdc), mRNA [NM_144744]	0,94	0,94	0,83
Acsl5	NM_053607	Rattus norvegicus acyl-CoA synthetase long-chain family member 5 (Acsl5), mRNA [NM_053607]	0,97	1,00	0,76
Adam18	XM_341456	PREDICTED: Rattus norvegicus a disintegrin and metallopeptidase domain 18 (Adam18), mRNA [XM_341456]	0,81	0,90	0,70
Adcyap1	NM_016989	Rattus norvegicus adenylate cyclase activating polypeptide 1 (Adcyap1), mRNA [NM_016989]	0,88	0,90	0,80
AI136887	AI136887	AI136887 UI-R-C2p-of-f-08-0-UI.s1 UI-R-C2p Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C2p-of-f-08-0-UI 3', mRNA sequence [AI136887]	1,02	1,04	0,78
AI229721	AI229721	AI229721 EST226416 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone REMCL08 3' end, mRNA sequence [AI229721]	0,91	0,86	0,77
AI231702	AI231702	AI231702 EST228390 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone REMDN77 3' end, mRNA sequence [AI231702]	0,76	0,80	0,82
AJ518866	AJ518866	Rattus norvegicus mRNA for ankyrin repeat and SOCS box containing protein 17 (asb-17 gene). [AJ518866]	1,05	1,06	0,82
Akna_predicted	XM_342848	PREDICTED: Rattus norvegicus AT-hook transcription factor (predicted) (Akna_predicted), mRNA [XM_342848]	0,86	1,17	0,82
Alcam	NM_031753	Rattus norvegicus activated leukocyte cell adhesion molecule (Alcam), mRNA [NM_031753]	0,94	1,08	0,69
Als2cr3	NM_133560	Rattus norvegicus amyotrophic lateral sclerosis 2 (juvenile) chromosome region, candidate 3 homolog (human) (Als2cr3), mRNA [NM_133560]	0,90	0,85	0,71
Als2cr3	AJ288898	Rattus norvegicus mRNA for GABA-A receptor interacting factor-1 (GRIF-1 gene), splice variants. [AJ288898]	0,86	0,95	0,78
Anubl1	XM_575647	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ANUBL1 protein (LOC500298), mRNA [XM_575647]	1,02	0,99	0,78
Ap3s1_predicted	XM_217560	PREDICTED: Rattus norvegicus adaptor-related protein complex 3, sigma 1 subunit (predicted) (Ap3s1_predicted), mRNA [XM_217560]	0,78	0,84	0,81
Ap3s1_predicted	XM_217560	PREDICTED: Rattus norvegicus adaptor-related protein complex 3, sigma 1 subunit (predicted) (Ap3s1_predicted), mRNA [XM_217560]	0,83	0,92	0,83
Apba2bp_predicted	XM_230761	PREDICTED: Rattus norvegicus amyloid beta (A4) precursor protein-binding, family A, member 1 binding protein (predicted) (Apba2bp_predicted), mRNA [XM_230761]	0,94	0,97	0,82
Apod	NM_012777	Rattus norvegicus apolipoprotein D (Apod), mRNA [NM_012777]	0,79	0,76	0,61
Arhgef2_predicted	XM_227406	Rattus norvegicus similar to Lbcl1 protein (LOC310635), mRNA [XM_227406]	0,95	0,86	0,73
Arl6_predicted	XM_344009	PREDICTED: Rattus norvegicus ADP-ribosylation factor-like 6 (predicted) (Arl6_predicted), mRNA [XM_344009]	0,89	0,83	0,74
Arrdc3	NM_001007797	Rattus norvegicus arrestin domain containing 3 (Arrdc3), mRNA [NM_001007797]	1,03	0,90	0,68
Arrdc3	XM_226639	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein CLONE24945 (LOC309945), mRNA [XM_226639]	0,79	0,77	0,79
Asb15	XM_216108	PREDICTED: Rattus norvegicus ankyrin repeat and SOCS box-containing protein 15 (Asb15), mRNA [XM_216108]	0,99	1,07	0,70
Atad2_predicted	XM_235326	PREDICTED: Rattus norvegicus ATPase family, AAA domain containing 2 (predicted) (Atad2_predicted), mRNA [XM_235326]	0,98	0,84	0,73
Atf2	NM_031018	Rattus norvegicus activating transcription factor 2 (Atf2), mRNA [NM_031018]	0,88	0,78	0,72
AW143475	AW143475	AW143475 EST293875 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBV51 5' end, mRNA sequence [AW143475]	1,00	0,88	0,78
AW915055	AW915055	AW915055 EST346359 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBN96 5' end, mRNA sequence [AW915055]	1,06	0,78	0,76
AW915747	AW915747	AW915747 EST347051 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIDA24 5' end, mRNA sequence [AW915747]	0,86	0,92	0,69

AW916375	AW916375	AW916375 EST347666 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIDN84 5' end, mRNA sequence [AW916375]	1,01	0,94	0,76
AW918921	AW918921	AW918921 EST350225 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIFA36 5' end, mRNA sequence [AW918921]	0,95	0,81	0,70
AW921298	AW921298	AW921298 EST352602 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIHQ70 5' end, mRNA sequence [AW921298]	0,90	1,06	0,82
Axot_predicted	NM_001012087	Rattus norvegicus axotrophin (predicted) (Axot_predicted), mRNA [NM_001012087]	0,98	0,72	0,77
AY325195	AY325195	Rattus norvegicus Ab2-183 mRNA, complete cds. [AY325195]	0,97	0,95	0,78
AZF1	XM_342745	PREDICTED: Rattus norvegicus zinc finger protein 1 (AZF1), mRNA [XM_342745]	0,97	1,06	0,70
AZF1	XM_342745	PREDICTED: Rattus norvegicus zinc finger protein 1 (AZF1), mRNA [XM_342745]	0,93	0,96	0,78
BC078978	BC078978	Rattus norvegicus cDNA clone MGC:93861 IMAGE:7111972, complete cds. [BC078978]	0,97	0,95	0,78
BC079126	BC079126	Rattus norvegicus cDNA clone MGC:94133 IMAGE:7127052, complete cds. [BC079126]	1,07	1,13	0,72
BC081885	BC081885	Rattus norvegicus cDNA clone MGC:93760 IMAGE:7108525, complete cds. [BC081885]	1,42	1,06	0,77
BC088315	BC088315	Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7324983. [BC088315]	0,98	0,92	0,82
BE118459	BE118459	BE118459 UI-R-BJ1-azp-h-02-0-UI.s1 UI-R-BJ1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ1-azp-h-02-0-UI 3', mRNA sequence [BE118459]	1,06	1,10	0,70
BF394688	BF394688	UI-R-CA0-bfy-f-12-0-UI.s1 UI-R-CA0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CA0-bfy-f-12-0-UI 3', mRNA sequence [BF394688]	0,91	1,01	0,70
BF404700	BF404700	UI-R-CA1-bib-f-01-0-UI.s1 UI-R-CA1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CA1-bib-f-01-0-UI 3', mRNA sequence [BF404700]	1,42	0,85	0,65
BF414002	BF414002	UI-R-BJ2-bol-c-08-0-UI.s1 UI-R-BJ2 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ2-bol-c-08-0-UI 3', mRNA sequence [BF414002]	0,65	0,70	0,30
BF414002	BF414002	UI-R-BJ2-bol-c-08-0-UI.s1 UI-R-BJ2 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ2-bol-c-08-0-UI 3', mRNA sequence [BF414002]	0,77	1,11	0,60
BF550231	BF550231	BF550231 UI-R-A1-ee-b-12-0-UI.r1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-ee-b-12-0-UI 5', mRNA sequence [BF550231]	0,92	0,89	0,79
BF556399	BF556399	BF556399 UI-R-A1-ep-e-10-0-UI.r1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-ep-e-10-0-UI 5', mRNA sequence [BF556399]	0,97	1,03	0,71
BF558358	BF558358	BF558358 UI-R-E0-dm-f-02-0-UI.r1 UI-R-E0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E0-dm-f-02-0-UI 5', mRNA sequence [BF558358]	0,80	0,88	0,73
BF563626	BF563626	BF563626 UI-R-BT1-akk-c-08-0-UI.r1 UI-R-BT1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BT1-akk-c-08-0-UI 5', mRNA sequence [BF563626]	0,90	0,94	0,83
BF567478	BF567478	BF567478 UI-R-BO0-aia-f-06-0-UI.r1 UI-R-BO0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BO0-aia-f-06-0-UI 5', mRNA sequence [BF567478]	0,87	0,77	0,80
BG663107	BG663107	BG663107 DRA08D03 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRA08D03 5', mRNA sequence [BG663107]	1,00	0,95	0,78
BG671734	BG671734	BG671734 DRNBXB04 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRNBXB04 5', mRNA sequence [BG671734]	0,93	0,89	0,66
BG672252	BG672252	BG672252 DRNCED04 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRNCED04 5', mRNA sequence [BG672252]	1,00	0,93	0,74
BI277629	BI277629	BI277629 UI-R-CY0-bxt-e-06-0-UI.s1 UI-R-CY0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CY0-bxt-e-06-0-UI 3', mRNA sequence [BI277629]	1,00	0,75	0,69
BI395655	BI395655	BI395655 EST531526 Rat gene index, normalized rat, norvegicus Rattus norvegicus cDNA clone RGIBT82 5' end, mRNA sequence [BI395655]	0,88	0,96	0,71
BI395660	BI395660	BI395660 EST531531 Rat gene index, normalized rat, norvegicus Rattus norvegicus cDNA clone RGIBT90 5' end, mRNA sequence [BI395660]	0,96	0,99	0,83
BM986478	BM986478	BM986478 EST594072 Rat gene index, normalized rat, norvegicus Rattus norvegicus cDNA clone RGOAC57 3' end, mRNA sequence [BM986478]	0,89	0,92	0,79
BM986576	BM986576	BM986576 EST594170 Rat gene index, normalized rat, norvegicus Rattus norvegicus cDNA clone RGOAD32 3' end, mRNA sequence [BM986576]	0,80	0,68	0,65
BQ200260	BQ200260	BQ200260 UI-R-DO1-cmk-f-01-0-UI.s1 UI-R-DO1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-DO1-cmk-f-01-0-UI 3', mRNA sequence [BQ200260]	1,36	1,05	0,69
Bteb1	NM_057211	Rattus norvegicus basic transcription element binding protein 1 (Bteb1), mRNA [NM_057211]	0,75	0,70	0,41
CA512222	CA512222	CA512222 UI-R-FJ0-cpz-i-21-0-UI.r1 UI-R-FJ0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-FJ0-cpz-i-21-0-UI 5', mRNA sequence [CA512222]	0,96	0,92	0,80
Capza3	NM_017164	Rattus norvegicus capping protein (actin filament) muscle Z-line, alpha 3 (Capza3), mRNA [NM_017164]	0,97	0,99	0,83
Cast	NM_053295	Rattus norvegicus calpastatin (Cast), mRNA [NM_053295]	0,89	0,79	0,65
Catsper1_predicted	XM_219698	Rattus norvegicus similar to sperm ion channel (LOC293672), mRNA [XM_219698]	0,74	0,81	0,72
Catsper3_predicted	XM_225156	PREDICTED: Rattus norvegicus cation channel, sperm associated 3 (predicted) (Catsper3_predicted), mRNA [XM_225156]	0,80	1,04	0,68
CB548449	CB548449	CB548449 AMGNNUC:MRBE3-00046-A11-A rat brain E15 (10374) Rattus norvegicus cDNA clone mrbe3-00046-a11 5', mRNA sequence [CB548449]	1,09	1,00	0,74
CB606190	CB606190	CB606190 AMGNNUC:NRWA3-00022-C9-A white adipose tiss (10469) Rattus norvegicus cDNA clone nrwa3-00022-c9 5', mRNA sequence [CB606190]	1,01	0,99	0,83
Ccpg1_predicted	XM_343429	PREDICTED: Rattus norvegicus cell cycle progression 1 (predicted) (Ccpg1_predicted), mRNA [XM_343429]	0,94	0,78	0,80
Cd2ap	NM_181475	Rattus norvegicus CD2-associated protein (Cd2ap), mRNA [NM_181475]	0,92	0,88	0,72
Cd52	NM_053983	Rattus norvegicus CD52 antigen (Cd52), mRNA [NM_053983]	0,61	0,56	0,60
Cdkl3	NM_021772	Rattus norvegicus cyclin-dependent kinase-like 3 (Cdkl3), mRNA [NM_021772]	0,89	0,70	0,60
Cdkn2b	NM_130812	Rattus norvegicus cyclin-dependent kinase inhibitor 2B (p15, inhibits CDK4) (Cdkn2b), mRNA [NM_130812]	1,03	0,98	0,78
Cdyl2_predicted	XM_226510	PREDICTED: Rattus norvegicus chromodomain protein, Y chromosome-like 2 (predicted) (Cdyl2_predicted), mRNA [XM_226510]	0,89	0,78	0,50
Chga	NM_021655	Rattus norvegicus chromogranin A (Chga), mRNA [NM_021655]	0,94	0,88	0,80
Chn2	NM_032084	Rattus norvegicus chimerin (chimaerin) 2 (Chn2), mRNA [NM_032084]	0,81	0,90	0,64
Chrb3	NM_133597	Rattus norvegicus cholinergic receptor, nicotinic, beta polypeptide 3 (Chrb3), mRNA [NM_133597]	0,67	0,87	0,72
CK471000	CK471000	AGENCOURT_17644530 NIH_MGC_237 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7115605 5', mRNA sequence [CK471000]	0,97	0,78	0,76
CK596364	CK596364	AGENCOURT_17837420 NIH_MGC_238 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7131533 5', mRNA sequence [CK596364]	1,33	0,82	0,67

Cpeb4_predicted	XM_220269	PREDICTED: Rattus norvegicus cytoplasmic polyadenylation element binding protein 4 (predicted) (Cpeb4_predicted), mRNA [XM_220269]	0,94	0,98	0,82
Ctbs	NM_001014177	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4921536I21 (LOC362056), mRNA [NM_001014177]	1,05	0,98	0,77
Ctrb	NM_012536	Rattus norvegicus Chymotrypsinogen B (Ctrb), mRNA [NM_012536]	0,72	0,82	0,55
Ctsk	NM_031560	Rattus norvegicus cathepsin K (Ctsk), mRNA [NM_031560]	0,87	0,92	0,74
Ctsl	NM_013156	Rattus norvegicus cathepsin L (Ctsl), mRNA [NM_013156]	0,80	0,78	0,62
Cyfp2_predicted	XM_220333	PREDICTED: Rattus norvegicus cytoplasmic FMR1 interacting protein 2 (predicted) (Cyfp2_predicted), mRNA [XM_220333]	0,97	0,94	0,78
Cyp51	NM_012941	Rattus norvegicus cytochrome P450, subfamily 51 (Cyp51), mRNA [NM_012941]	1,02	0,96	0,72
D38557	D38557	MUSMUGA Mouse mRNA for galactocerebrosidase, complete cds [D38557]	0,88	0,94	0,82
Dag1	XM_343483	PREDICTED: Rattus norvegicus dystroglycan 1 (Dag1), mRNA [XM_343483]	0,90	0,92	0,79
Dcx	NM_053379	Rattus norvegicus doublecortin (Dcx), mRNA [NM_053379]	1,08	1,07	0,73
Dmrta2_predicted	XM_233363	PREDICTED: Rattus norvegicus doublesex and mab-3 related transcription factor like family A2 (predicted) (Dmrta2_predicted), mRNA [XM_233363]	0,68	0,85	0,74
Dnajb9	NM_012699	Rattus norvegicus Dnaj (Hsp40) homolog, subfamily B, member 9 (Dnajb9), mRNA [NM_012699]	0,87	0,84	0,53
Dnajc5	NM_024161	Rattus norvegicus cysteine string protein (Dnajc5), mRNA [NM_024161]	0,88	0,92	0,83
Dnm1l	AF132727	Rattus norvegicus dynamin-like protein DLP1 isoform DLP1-37 mRNA, complete cds. [AF132727]	0,94	1,00	0,71
Dnm1	NM_053655	Rattus norvegicus dynamin 1-like (Dnm1l), mRNA [NM_053655]	1,00	0,97	0,77
Dnm1	NM_053655	Rattus norvegicus dynamin 1-like (Dnm1), mRNA [NM_053655]	0,80	0,95	0,77
Dyrk2_predicted	XM_235179	PREDICTED: Rattus norvegicus dual-specificity tyrosine-(Y)-phosphorylation regulated kinase 2 (predicted) (Dyrk2_predicted), mRNA [XM_235179]	0,89	0,91	0,77
Eli2_predicted	XM_226624	PREDICTED: Rattus norvegicus elongation factor RNA polymerase II 2 (predicted) (Eli2_predicted), mRNA [XM_226624]	0,97	0,95	0,75
Enpp4_predicted	XM_236955	PREDICTED: Rattus norvegicus ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 4 (predicted) (Enpp4_predicted), mRNA [XM_236955]	1,04	0,94	0,80
ENSRNOT00000004269	ENSRNOT00000004269	Q99LB6 (Q99LB6) Methionine adenosyltransferase II, beta, partial (66%) [TC518844]	0,77	1,04	0,75
ENSRNOT00000004356	ENSRNOT00000004356	Unknown	0,95	0,94	0,83
ENSRNOT00000004517	ENSRNOT00000004517	Unknown	0,94	0,75	0,76
ENSRNOT00000005032	ENSRNOT00000005032	Rattus norvegicus ribosomal protein S6 kinase, polypeptide 1 (predicted), mRNA (cDNA clone IMAGE:5599778). [BC064438]	0,83	0,80	0,70
ENSRNOT00000012164	ENSRNOT00000012164	Unknown	0,87	0,90	0,74
ENSRNOT00000014598	ENSRNOT00000014598	DHE3_HUMAN (P00367) Glutamate dehydrogenase 1, mitochondrial precursor (GDH) , partial (3%) [TC521933]	0,91	0,93	0,80
ENSRNOT00000029055	ENSRNOT00000029055	Unknown	0,81	0,82	0,79
ENSRNOT00000035914	ENSRNOT00000035914	Unknown	0,92	0,84	0,78
ENSRNOT00000039186	ENSRNOT00000039186	AI011063 EST205514 Normalized rat muscle, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RMUAX04 3' end, mRNA sequence [AI011063]	0,83	0,85	0,73
ENSRNOT00000039294	ENSRNOT00000039294	Unknown	1,07	0,98	0,77
ENSRNOT00000044253	ENSRNOT00000044253	Unknown	0,93	0,90	0,76
ENSRNOT00000046943	ENSRNOT00000046943	Q6RY99 (Q6RY99) Gamma-hydroxybutyrate receptor, partial (4%) [TC521986]	0,80	1,10	0,54
ENSRNOT00000047305	ENSRNOT00000047305	Unknown	0,85	0,84	0,79
ENSRNOT00000048313	ENSRNOT00000048313	Unknown	0,94	1,01	0,82
ENSRNOT00000048644	ENSRNOT00000048644	Unknown	0,94	0,92	0,74
ENSRNOT00000048838	ENSRNOT00000048838	Unknown	1,04	1,03	0,78
Entpd1	NM_022587	Rattus norvegicus ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1 (Entpd1), mRNA [NM_022587]	1,14	0,84	0,79
Epb4.1i3	NM_053927	Rattus norvegicus erythrocyte protein band 4.1-like 3 (Epb4.1i3), mRNA [NM_053927]	1,02	0,82	0,71
Eps8i3_predicted	XM_215677	PREDICTED: Rattus norvegicus ESP8-like 3 (predicted) (Eps8i3_predicted), mRNA [XM_215677]	0,82	1,03	0,73
Etsrp71_predicted	XM_341830	PREDICTED: Rattus norvegicus ets related protein 71 (predicted) (Etsrp71_predicted), mRNA [XM_341830]	0,94	0,98	0,78
Fadd	NM_152937	Rattus norvegicus Fas (TNFRSF6)-associated via death domain (Fadd), mRNA [NM_152937]	1,00	1,27	0,69
Fbxl10_predicted	XM_222177	PREDICTED: Rattus norvegicus F-box and leucine-rich repeat protein 10 (predicted) (Fbxl10_predicted), mRNA [XM_222177]	1,20	0,89	0,68
Fbxl19_predicted	XM_219356	PREDICTED: Rattus norvegicus F-box and leucine-rich repeat protein 19 (predicted) (Fbxl19_predicted), mRNA [XM_219356]	0,76	0,68	0,66
Fbxl7_predicted	XM_342204	PREDICTED: Rattus norvegicus F-box and leucine-rich repeat protein 7 (predicted) (Fbxl7_predicted), mRNA [XM_342204]	1,10	0,97	0,77
Fbxo30	NM_001007690	Rattus norvegicus F-box only protein 30 (Fbxo30), mRNA [NM_001007690]	0,90	0,83	0,79
Fem1c_predicted	XM_228396	PREDICTED: Rattus norvegicus fem-1 homolog c (C.elegans) (predicted) (Fem1c_predicted), mRNA [XM_228396]	0,98	0,97	0,83
Fgfr1op_predicted	NM_344816	Rattus norvegicus similar to FGFR1 oncogene partner (LOC365103), mRNA [XM_344816]	1,02	0,92	0,74
Foxr1_predicted	XM_243815	PREDICTED: Rattus norvegicus forkhead box R1 (predicted) (Foxr1_predicted), mRNA [XM_243815]	0,86	0,91	0,70
Ftmt_predicted	XM_225772	PREDICTED: Rattus norvegicus ferritin mitochondrial (predicted) (Ftmt_predicted), mRNA [XM_225772]	0,86	0,83	0,77
Fts_predicted	NM_001011926	Rattus norvegicus fused toes (predicted) (Fts_predicted), mRNA [NM_001011926]	0,94	0,77	0,63
Geft	NM_199395	Rattus norvegicus RAC/CDC42 exchange factor (Geft), mRNA [NM_199395]	0,95	0,86	0,77
Glipr2_predicted	XM_342827	Rattus norvegicus similar to chromosome 9 open reading frame 19; 17kD fetal brain protein (LOC362509), mRNA [XM_342827]	0,92	0,94	0,57
Gltcd1_predicted	XM_231076	PREDICTED: Rattus norvegicus galactosyltransferase family 6 domain containing 1 (predicted) (Gltcd1_predicted), mRNA [XM_231076]	0,88	1,02	0,78
Glud1	NM_181383	Rattus norvegicus glutamate-ammonia ligase (glutamine synthase) domain containing 1 (Glud1), mRNA [NM_181383]	0,83	0,86	0,81
Gorasp1	NM_019385	Rattus norvegicus golgi reassembly stacking protein 1 (Gorasp1), mRNA [NM_019385]	0,87	0,83	0,81

Gpm6b	NM_138846	Rattus norvegicus glycoprotein m6b (Gpm6b), mRNA [NM_138846]	0,98	0,92	0,81
Gpx4	BQ190299	UI-R-DN1-ckg-d-18-0-UI.s1 UI-R-DN1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-DN1-ckg-d-18-0-UI 3', mRNA sequence [BQ190299]	0,88	0,88	0,72
Grip1	NM_032069	Rattus norvegicus glutamate receptor interacting protein 1 (Grip1), mRNA [NM_032069]	0,86	1,02	0,77
Hapln4_predicted	XM_341416	PREDICTED: Rattus norvegicus hyaluronan and proteoglycan link protein 4 (predicted) (Hapln4_predicted), mRNA [XM_341416]	1,10	0,98	0,80
Herpud1	NM_053523	Rattus norvegicus homocysteine-inducible, endoplasmic reticulum stress-inducible, ubiquitin-like domain member 1 (Herpud1), mRNA [NM_053523]	1,14	1,03	0,80
Hiat1_predicted	XM_215693	PREDICTED: Rattus norvegicus hippocampus abundant gene transcript 1 (predicted) (Hiat1_predicted), mRNA [XM_215693]	0,99	1,04	0,74
Hiat1_predicted	XM_215693	PREDICTED: Rattus norvegicus hippocampus abundant gene transcript 1 (predicted) (Hiat1_predicted), mRNA [XM_215693]	1,01	1,01	0,82
Hook1_predicted	XM_233196	PREDICTED: Rattus norvegicus hook homolog 1 (Drosophila) (predicted) (Hook1_predicted), mRNA [XM_233196]	0,82	0,78	0,78
hshn7	NM_001008889	Rattus norvegicus HIV-induced protein-7-like protease (hshn7), mRNA [NM_001008889]	0,93	0,80	0,62
lbrdc3_predicted	XM_233761	PREDICTED: Rattus norvegicus IBR domain containing 3 (predicted) (lbrdc3_predicted), mRNA [XM_233761]	1,10	1,07	0,83
Igfbp3	NM_012588	Rattus norvegicus insulin-like growth factor binding protein 3 (Igfbp3), mRNA [NM_012588]	0,88	0,44	0,52
Igsf1	AF322217	Rattus norvegicus inhibin binding protein short isoform mRNA, complete cds; alternatively spliced. [AF322217]	1,08	0,85	0,68
Iqgap1_predicted	XM_341877	PREDICTED: Rattus norvegicus IQ motif containing GTPase activating protein 1 (predicted) (Iqgap1_predicted), mRNA [XM_341877]	0,86	0,80	0,71
J01879	J01879	RATRSIDD Rat brain-specific identifier sequence RNA, clone p2a120 [J01879]	0,84	0,65	0,52
Kbtbd10	NM_057191	Rattus norvegicus kelch repeat and BTB (POZ) domain containing 10 (Kbtbd10), mRNA [NM_057191]	0,87	0,92	0,70
Kcnj13	NM_053608	Rattus norvegicus potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 13 (Kcnj13), mRNA [NM_053608]	0,91	0,89	0,72
Kif21a_predicted	XM_217022	PREDICTED: Rattus norvegicus kinesin family member 21A (predicted) (Kif21a_predicted), mRNA [XM_217022]	0,96	0,93	0,68
Kist	NM_017293	Rattus norvegicus kinase interacting with leukemia-associated gene (Kist), mRNA [NM_017293]	0,92	0,81	0,77
Klks3	NM_175759	Rattus norvegicus kallikrein, submaxillary gland S3 (Klks3), mRNA [NM_175759]	0,93	1,01	0,72
L20998	L20998	Rattus norvegicus T cell receptor mRNA, partial cds. [L20998]	0,97	0,99	0,67
Lamc3_predicted	XM_231139	PREDICTED: Rattus norvegicus laminin gamma 3 (predicted) (Lamc3_predicted), mRNA [XM_231139]	1,04	0,97	0,80
Lamp1	NM_012857	Rattus norvegicus lysosomal membrane glycoprotein 1 (Lamp1), mRNA [NM_012857]	1,02	0,95	0,83
Lcp1_predicted	NM_001012044	Rattus norvegicus lymphocyte cytosolic protein 1 (predicted) (Lcp1_predicted), mRNA [NM_001012044]	0,85	0,92	0,72
Lgals1	NM_019904	Rattus norvegicus lectin, galactose binding, soluble 1 (Lgals1), mRNA [NM_019904]	0,81	0,63	0,68
Lgl1	NM_138518	Rattus norvegicus late gestation lung protein 1 (Lgl1), mRNA [NM_138518]	0,77	0,65	0,73
Lias_predicted	NM_001012037	Rattus norvegicus lipoic acid synthetase (predicted) (Lias_predicted), mRNA [NM_001012037]	0,88	0,95	0,82
LOC287776	XM_221056	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC33887 (LOC287776), mRNA [XM_221056]	1,02	1,02	0,82
LOC288330	XM_221736	Rattus norvegicus similar to Set alpha isoform (LOC288330), mRNA [XM_221736]	1,03	0,84	0,76
LOC288751	XM_213813	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC288751), mRNA [XM_213813]	0,99	0,79	0,76
LOC289288	XM_222975	Rattus norvegicus similar to MAP/microtubule affinity-regulating kinase 2 isoform a; ELKL motif kinase 1; ELKL motif kinase (LOC289288), mRNA [XM_222975]	0,78	0,65	0,53
LOC290295	XM_224270	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative E1-E2 ATPase (LOC290295), mRNA [XM_224270]	0,92	0,83	0,61
LOC290396	XM_224392	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to diaphanous-related formin; p134 mDia2 (LOC290396), mRNA [XM_224392]	0,94	0,89	0,82
LOC290412	XM_224416	Rattus norvegicus similar to Pyruvate kinase, M2 isozyme (LOC290412), mRNA [XM_224416]	1,10	0,89	0,80
LOC290670	XM_224740	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to serine/threonine protein kinase SSTK (LOC290670), mRNA [XM_224740]	1,07	1,06	0,78
LOC290876	XM_214391	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700029H14 (LOC290876), mRNA [XM_214391]	0,93	0,98	0,81
LOC290877	XM_214392	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4933417N17 (LOC290877), mRNA [XM_214392]	0,62	0,34	0,35
LOC291345	XM_225619	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to MAP/microtubule affinity-regulating kinase 4 (MAP/microtubule affinity-regulating kinase like 1) (LOC291345), mRNA [XM_225619]	0,93	0,79	0,75
LOC291510	XM_225832	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Spindlin-like protein 2 (SPIN-2) (LOC291510), mRNA [XM_225832]	0,92	0,96	0,80
LOC292486	XM_214790	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Aig1 protein (LOC292486), mRNA [XM_214790]	0,88	0,90	0,76
LOC293112	XM_214991	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to tyrosine kinase-associated leucine zipper protein LAZiPII (LOC293112), mRNA [XM_214991]	0,91	1,02	0,82
LOC294661	XM_226710	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to S100 calcium binding protein, zeta (LOC294661), mRNA [XM_226710]	1,53	1,05	0,68
LOC294747	XM_226771	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to BC067074 protein (LOC294747), mRNA [XM_226771]	0,97	0,94	0,82
LOC297806	XM_232654	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to protein tyrosine phosphatase 4a2 (LOC297806), mRNA [XM_232654]	0,92	0,89	0,69
LOC297906	XM_232854	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4930474N05 (LOC297906), mRNA [XM_232854]	0,94	1,03	0,83
LOC298331	XM_233291	Rattus norvegicus similar to Tes protein (LOC298331), mRNA [XM_233291]	0,68	0,74	0,49
LOC298426	XM_238407	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2810405F18 (LOC298426), mRNA [XM_238407]	1,06	0,98	0,79
LOC298817	XM_233898	Rattus norvegicus similar to Spindlin-like protein 2 (SPIN-2) (LOC298817), mRNA [XM_233898]	0,96	0,92	0,78
LOC298844	XM_216649	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC44505 (LOC298844), mRNA [XM_216649]	0,88	0,87	0,79
LOC298998	XM_238451	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC298998 (LOC298998), mRNA [XM_238451]	1,16	0,93	0,72
LOC299964	XM_235352	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to KIAA0089 (LOC299964), mRNA [XM_235352]	0,84	0,88	0,67
LOC300201	XM_217032	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to HSD-29 (LOC300201), mRNA [XM_217032]	0,99	0,93	0,69
LOC300323	XM_235773	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700030J15 (LOC300323), mRNA [XM_235773]	0,91	0,97	0,64
LOC301604	XM_237391	Rattus norvegicus similar to Pyruvate kinase, M2 isozyme (LOC301604), mRNA [XM_237391]	0,93	1,05	0,77

LOC301891	XM_229373	Rattus norvegicus similar to Spindlin-like protein 2 (SPIN-2) (LOC301891), mRNA [XM_229373]	1,03	1,05	0,78
LOC301899	XM_229383	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to serine/threonine kinase (LOC301899), mRNA [XM_229383]	0,87	0,61	0,40
LOC301957	XM_229459	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 5430404L10 (LOC301957), mRNA [XM_229459]	0,95	0,91	0,81
LOC302075	XM_229637	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to serine/threonine kinase (LOC302075), mRNA [XM_229637]	0,98	0,74	0,53
LOC302325	XM_228448	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Diamine acetyltransferase 1 (Spermidine/spermine N(1)-acetyltransferase 1) (SSAT) (SSAT-1) (Putrescine acetyltransferase) (Polyamine N-acetyltransferase 1) (LOC302325), mRNA [XM_228448]	1,13	1,02	0,69
LOC302575	XM_228797	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Germ cell-less protein-like 2 (mGclh) (LOC302575), mRNA [XM_228797]	0,99	1,06	0,77
LOC302697	XM_217622	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to eukaryotic translation initiation factor 1A, Y-linked (LOC302697), mRNA [XM_217622]	0,81	0,73	0,66
LOC302724	XM_229001	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to family with sequence similarity 47, member A (LOC302724), mRNA [XM_229001]	0,91	1,08	0,80
LOC302765	XM_229068	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4930474N05 (LOC302765), mRNA [XM_229068]	1,00	1,05	0,82
LOC302775	XM_229087	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ring finger protein 2 (LOC302775), mRNA [XM_229087]	1,02	1,11	0,81
LOC303215	XM_220553	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Charcot-Marie-Tooth duplicated region transcript 1 (LOC303215), mRNA [XM_220553]	0,86	0,93	0,82
LOC305078	XM_223087	PREDICTED: Rattus norvegicus laminin chain (LOC305078), mRNA [XM_223087]	0,99	0,93	0,66
LOC305626	XM_223731	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to GPI7 (LOC305626), mRNA [XM_223731]	1,17	0,78	0,77
LOC306685	XM_225091	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to testicular serine protease 1 (LOC306685), mRNA [XM_225091]	0,94	0,98	0,82
LOC307970	XM_226598	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Ataxin-1 (Spinocerebellar ataxia type 1 protein homolog) (LOC307970), mRNA [XM_226598]	1,12	1,07	0,78
LOC309692	XM_228081	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Disco-interacting protein 2 homolog (LOC309692), mRNA [XM_228081]	0,92	0,85	0,72
LOC309745	XM_228133	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to alpha T-catenin (LOC309745), mRNA [XM_228133]	0,90	0,84	0,82
LOC311399	XM_230564	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4930511O11 (LOC311399), mRNA [XM_230564]	1,04	1,10	0,81
LOC313208	XM_232950	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to fibronectin type 3 and SPRY domain-containing protein (LOC313208), mRNA [XM_232950]	0,85	0,95	0,83
LOC315920	XM_236523	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4930405J24 (LOC315920), mRNA [XM_236523]	1,01	1,12	0,78
LOC316318	XM_237047	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to TESP2 (LOC316318), mRNA [XM_237047]	0,70	0,75	0,78
LOC316851	XM_229326	Rattus norvegicus similar to Spindlin-like protein 2 (SPIN-2) (LOC316851), mRNA [XM_229326]	1,23	0,82	0,74
LOC317498	XM_228959	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Serine/threonine protein phosphatase with EF-hands-1 (PPEF-1) (Protein phosphatase with EF calcium-binding domain) (PPEF) (Serine/threonine protein phosphatase 7) (PP7) (LOC317498), mRNA [XM_228959]	0,93	0,91	0,71
LOC360595	XM_340875	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 0610013E23 (LOC360595), mRNA [XM_340875]	1,19	0,99	0,76
LOC361116	XM_341404	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 3110001I22 (LOC361116), mRNA [XM_341404]	0,86	0,84	0,78
LOC361482	XM_341759	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Afadin (AF-6 protein) (LOC361482), mRNA [XM_341759]	0,95	0,81	0,76
LOC361500	XM_341779	Rattus norvegicus similar to zinc finger protein (LOC361500), mRNA [XM_341779]	1,04	0,86	0,81
LOC361599	XM_346991	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to epididymal protein (LOC361599), mRNA [XM_346991]	0,75	0,88	0,66
LOC361786	XM_347000	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC361786 (LOC361786), mRNA [XM_347000]	1,01	0,95	0,82
LOC363244	XM_347117	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC363244 (LOC363244), mRNA [XM_347117]	1,12	0,96	0,81
LOC363333	XM_343671	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to chromatin assembly factor-1 p150 subunit (LOC363333), mRNA [XM_343671]	1,28	1,09	0,61
LOC363385	XM_343720	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to cDNA sequence AY358078 (LOC363385), mRNA [XM_343720]	0,95	0,97	0,80
LOC364503	XM_344478	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RAN binding protein 5 (LOC364503), mRNA [XM_344478]	1,00	0,93	0,83
LOC364538	XM_344499	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ankyrin repeat domain 26 (LOC364538), mRNA [XM_344499]	0,87	0,91	0,80
LOC364759	XM_344619	Rattus norvegicus similar to serine/threonine kinase (LOC364759), mRNA [XM_344619]	1,00	0,83	0,72
LOC365129	XM_344830	Rattus norvegicus similar to glutamine repeat protein 1 (LOC365129), mRNA [XM_344830]	1,12	0,96	0,80
LOC365229	XM_344881	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ABO histo-blood group B transferase (LOC365229), mRNA [XM_344881]	0,95	0,92	0,72
LOC365421	XM_345002	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to lysophospholipase I (LOC365421), mRNA [XM_345002]	0,82	1,00	0,83
LOC365554	XM_345096	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to proteasome subunit iota (LOC365554), mRNA [XM_345096]	1,15	0,96	0,78
LOC365787	XM_345206	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to GTPase activating protein testicular GAP1 (LOC365787), mRNA [XM_345206]	0,91	0,74	0,77
LOC366240	XM_345463	Rattus norvegicus similar to basic leucine zipper and W2 domains 1 (LOC366240), mRNA [XM_345463]	0,91	0,87	0,79
LOC367012	XM_345895	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to DNA-damage inducible protein 1 (LOC367012), mRNA [XM_345895]	0,89	0,93	0,76
LOC367471	XM_346152	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Y-linked testis-specific protein (LOC367471), mRNA [XM_346152]	1,03	1,05	0,81
LOC367632	XM_346234	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Y-linked testis-specific protein (LOC367632), mRNA [XM_346234]	1,13	1,08	0,79
LOC367714	XM_346266	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to mouse Rp2 protein (LOC367714), mRNA [XM_346266]	1,07	0,95	0,75
LOC368042	XM_347206	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to TBP-associated factor 172 (TAF-172) (TAF(II)170) (LOC368042), mRNA [XM_347206]	0,87	0,77	0,55
Lpin1_predicted	NM_001012111	Rattus norvegicus lipin 1 (predicted) (Lpin1_predicted), mRNA [NM_001012111]	0,88	0,82	0,69
Lrp12_predicted	XM_235261	PREDICTED: Rattus norvegicus low density lipoprotein-related protein 12 (predicted) (Lrp12_predicted), mRNA [XM_235261]	0,94	0,96	0,78
Maml1_predicted	XM_220373	PREDICTED: Rattus norvegicus mastermind like 1 (Drosophila) (predicted) (Maml1_predicted), mRNA [XM_220373]	0,89	0,78	0,72
Mfn1	NM_138976	Rattus norvegicus mitofusin 1 (Mfn1), mRNA [NM_138976]	1,01	0,98	0,80
MGC93920	NM_001007642	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700048E23 (MGC93920), mRNA [NM_001007642]	1,09	1,18	0,82
MGC93920	NM_001007642	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700048E23 (MGC93920), mRNA [NM_001007642]	0,95	1,02	0,83
MGC94053	NM_001007713	Rattus norvegicus similar to RECS1 (MGC94053), mRNA [NM_001007713]	0,97	1,01	0,80
MGC94320	NM_001005559	Rattus norvegicus similar to spermatid-specific thioredoxin (MGC94320), mRNA [NM_001005559]	1,11	1,23	0,72

MGC94339	XM_233718	Rattus norvegicus similar to BC002216 protein (LOC313771), mRNA [XM_233718]	0,78	0,81	0,76
MGC94797	NM_001007737	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1110059E24 (MGC94797), mRNA [NM_001007737]	0,94	0,94	0,82
MGC95217	NM_001007679	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2310028N02 (MGC95217), mRNA [NM_001007679]	0,84	0,85	0,76
MGC95241	NM_001007750	Rattus norvegicus similar to choline phosphotransferase 1; cholinephosphotransferase 1 alpha; cholinephosphotransferase 1 (MGC95241), mRNA [NM_001007750]	1,00	0,94	0,72
MGC95247	NM_001005531	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ25414 (MGC95247), mRNA [NM_001005531]	0,89	0,81	0,81
Mgea5	NM_131904	Rattus norvegicus meningioma expressed antigen 5 (hyaluronidase) (Mgea5), mRNA [NM_131904]	0,77	0,93	0,81
Mphosph9_predicted	XM_341077	Rattus norvegicus similar to M-phase phosphoprotein 9; M phase phosphoprotein 9 (LOC360805), mRNA [XM_341077]	1,03	0,93	0,81
Msemb	BC061839	Rattus norvegicus cDNA clone MGC:72479 IMAGE:5600078, complete cds. [BC061839]	0,86	0,84	0,62
Mtf1_predicted	XM_342910	PREDICTED: Rattus norvegicus metal response element binding transcription factor 1 (predicted) (Mtf1_predicted), mRNA [XM_342910]	0,98	0,89	0,82
Muted_predicted	XM_225255	PREDICTED: Rattus norvegicus muted (predicted) (Muted_predicted), mRNA [XM_225255]	0,92	0,81	0,72
Mybl1_predicted	XM_232620	PREDICTED: Rattus norvegicus myeloblastosis oncogene-like 1 (predicted) (Mybl1_predicted), mRNA [XM_232620]	0,81	0,78	0,70
Myh13	XM_340820	PREDICTED: Rattus norvegicus myosin, heavy polypeptide 13, skeletal muscle (Myh13), mRNA [XM_340820]	1,00	1,02	0,80
Myh8	K02111	Rat embryonic myosin heavy chain gene, partial 5' region, mRNA. [K02111]	0,90	1,06	0,77
Naalad2_predicted	XM_235877	PREDICTED: Rattus norvegicus N-acetylated alpha-linked acidic dipeptidase 2 (predicted) (Naalad2_predicted), mRNA [XM_235877]	1,00	0,92	0,76
Ncbp2_predicted	XM_213591	PREDICTED: Rattus norvegicus nuclear cap binding protein subunit 2 (predicted) (Ncbp2_predicted), mRNA [XM_213591]	0,91	0,94	0,67
Nedd1_predicted	XM_216878	PREDICTED: Rattus norvegicus neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated gene 1 (predicted) (Nedd1_predicted), mRNA [XM_216878]	1,00	0,92	0,81
Nfib	XM_342854	PREDICTED: Rattus norvegicus nuclear factor I/B (Nfib), mRNA [XM_342854]	0,86	0,83	0,77
Nkx2-2_predicted	XM_345446	PREDICTED: Rattus norvegicus NK2 transcription factor related, locus 2 (Drosophila) (predicted) (Nkx2-2_predicted), mRNA [XM_345446]	0,91	0,93	0,78
NM_001013064	NM_001013064	Rattus norvegicus F-box only protein 17 (predicted) (Fbxo17_predicted), mRNA [NM_001013064]	0,91	0,78	0,70
NM_001013073	NM_001013073	Rattus norvegicus BTB (POZ) domain containing 9 (predicted) (Btbd9_predicted), mRNA [NM_001013073]	0,98	0,89	0,71
NM_001013073	NM_001013073	Rattus norvegicus BTB (POZ) domain containing 9 (predicted) (Btbd9_predicted), mRNA [NM_001013073]	1,06	1,05	0,83
NM_001013076	NM_001013076	Rattus norvegicus Dnaj (Hsp40) homolog, subfamily B, member 4 (predicted) (Dnajb4_predicted), mRNA [NM_001013076]	0,90	1,00	0,75
NM_001013135	NM_001013135	Rattus norvegicus serologically defined colon cancer antigen 3 (predicted) (Sdcccag3_predicted), mRNA [NM_001013135]	0,92	1,02	0,73
NM_001013218	NM_001013218	Rattus norvegicus deleted in polyposis 1-like 1 (predicted) (Dp111_predicted), mRNA [NM_001013218]	0,77	0,84	0,75
NM_001013864	NM_001013864	Rattus norvegicus similar to LIM domain containing preferred translocation partner in lipoma; LIM domain-containing preferred translocation partner in lipoma; Lipoma-preferred-partner gene (LOC288010), mRNA [NM_001013864]	0,68	0,94	0,81
NM_001013876	NM_001013876	Rattus norvegicus similar to 4930430E16Rik protein (predicted) (RGD1304999_predicted), mRNA [NM_001013876]	0,94	0,85	0,70
NM_001013881	NM_001013881	Rattus norvegicus similar to p66 alpha homolog (predicted) (RGD1310596_predicted), mRNA [NM_001013881]	0,90	0,82	0,24
NM_001013887	NM_001013887	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2700075B01 (predicted) (RGD1310237_predicted), mRNA [NM_001013887]	0,91	0,88	0,82
NM_001013888	NM_001013888	Rattus norvegicus similar to plasma kallikrein-like protein 4 precursor (predicted) (RGD1307877_predicted), mRNA [NM_001013888]	1,08	0,99	0,81
NM_001013893	NM_001013893	Rattus norvegicus similar to actin-like 7-alpha-like protein (LOC292516), mRNA [NM_001013893]	0,93	0,90	0,77
NM_001013896	NM_001013896	Rattus norvegicus similar to CG11737-PA (predicted) (RGD1309948_predicted), mRNA [NM_001013896]	0,96	0,97	0,78
NM_001013899	NM_001013899	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC20470 (predicted) (RGD1307202_predicted), mRNA [NM_001013899]	0,95	0,90	0,70
NM_001013912	NM_001013912	Rattus norvegicus similar to AF1q (predicted) (RGD1305525_predicted), mRNA [NM_001013912]	0,93	0,86	0,77
NM_001013923	NM_001013923	Rattus norvegicus similar to Ndr3 protein (LOC296318), mRNA [NM_001013923]	0,97	0,83	0,72
NM_001013931	NM_001013931	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA B230312A22 (predicted) (RGD1311249_predicted), mRNA [NM_001013931]	0,96	0,81	0,79
NM_001013934	NM_001013934	Rattus norvegicus hypothetical LOC298398 (predicted) (RGD1310425_predicted), mRNA [NM_001013934]	1,03	1,09	0,70
NM_001013955	NM_001013955	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4930486B16 (LOC301106), mRNA [NM_001013955]	0,93	1,01	0,79
NM_001013992	NM_001013992	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ22419 (LOC305691), mRNA [NM_001013992]	0,78	0,74	0,53
NM_001014000	NM_001014000	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4921511116 (predicted) (RGD1305302_predicted), mRNA [NM_001014000]	1,01	1,15	0,78
NM_001014000	NM_001014000	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4921511116 (predicted) (RGD1305302_predicted), mRNA [NM_001014000]	0,84	0,71	0,79
NM_001014011	NM_001014011	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 9130427A09 (predicted) (RGD1311016_predicted), mRNA [NM_001014011]	0,95	1,03	0,71
NM_001014028	NM_001014028	Rattus norvegicus similar to Cgl67 serine protease precursor (predicted) (RGD1305246_predicted), mRNA [NM_001014028]	0,94	0,80	0,75
NM_001014039	NM_001014039	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1810019A08 (predicted) (RGD1310519_predicted), mRNA [NM_001014039]	0,84	0,92	0,77
NM_001014043	NM_001014043	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4933405A16 (predicted) (RGD1305778_predicted), mRNA [NM_001014043]	1,00	1,12	0,81
NM_001014049	NM_001014049	Rattus norvegicus similar to dJ842G6.2 (novel protein imilar to SEL1L (sel-1 (suppressor of lin-12, C.elegans)-like) (predicted) (RGD1311278_predicted), mRNA [NM_001014049]	0,77	0,88	0,83
NM_001014052	NM_001014052	Rattus norvegicus similar to Hypothetical protein C20orf135 (predicted) (RGD1309726_predicted), mRNA [NM_001014052]	0,99	0,89	0,76
NM_001014058	NM_001014058	Rattus norvegicus similar to ubiquitin specific protease UBP43 (LOC312688), mRNA [NM_001014058]	1,15	1,04	0,67
NM_001014060	NM_001014060	Rattus norvegicus similar to SRY (sex determining region Y)-box 5 isoform a (LOC312831), mRNA [NM_001014060]	0,92	1,01	0,81
NM_001014136	NM_001014136	Rattus norvegicus similar to peptide N-glycanase (LOC361014), mRNA [NM_001014136]	0,96	0,95	0,79
NM_001014144	NM_001014144	Rattus norvegicus similar to 9530008L14Rik protein (predicted) (RGD1305679_predicted), mRNA [NM_001014144]	0,88	0,92	0,77
NM_001014145	NM_001014145	Rattus norvegicus similar to testis-specific chromodomain Y-like protein (LOC361237), mRNA [NM_001014145]	0,98	1,00	0,79
NM_001014165	NM_001014165	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ10058 (predicted) (RGD1310039_predicted), mRNA [NM_001014165]	0,87	0,81	0,74

NM_001014165	NM_001014165	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ10058 (predicted) (RGD1310039_predicted), mRNA [NM_001014165]	0,97	0,95	0,74
NM_001014210	NM_001014210	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC34741 (predicted) (RGD1310243_predicted), mRNA [NM_001014210]	0,95	1,05	0,77
NM_001014248	NM_001014248	Rattus norvegicus similar to 2700078E11Rik protein (predicted) (RGD1308127_predicted), mRNA [NM_001014248]	0,89	0,99	0,81
NM_001014251	NM_001014251	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700034I23 (LOC365778), mRNA [NM_001014251]	0,85	0,91	0,73
NM_001015029	NM_001015029	Rattus norvegicus karyopherin (importin) alpha 6 (predicted) (Kpna6_predicted), mRNA [NM_001015029]	0,72	0,81	0,65
NM_001017383	NM_001017383	Rattus norvegicus peptidylprolyl isomerase (cyclophilin)-like 2 (predicted) (Ppil2_predicted), mRNA [NM_001017383]	1,04	0,83	0,79
NM_001017466	NM_001017466	Rattus norvegicus Snf7 homologue associated with Alix 3 (MGC108776), mRNA [NM_001017466]	0,75	0,67	0,70
NM_001017469	NM_001017469	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4921509E07 (LOC366671), mRNA [NM_001017469]	0,99	0,96	0,78
NM_001017472	NM_001017472	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4930503F14 (LOC497899), mRNA [NM_001017472]	0,99	0,88	0,70
NM_001017476	NM_001017476	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2810408A11 (LOC497940), mRNA [NM_001017476]	0,96	0,94	0,72
NM_001017508	NM_001017508	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC35169 (LOC498664), mRNA [NM_001017508]	0,96	0,93	0,74
NM_001017514	NM_001017514	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC34799 (LOC499152), mRNA [NM_001017514]	1,09	1,07	0,79
NM_001024251	NM_001024251	Rattus norvegicus flamingo-like protein celsr1 (LOC300128), mRNA [NM_001024251]	1,06	0,93	0,82
NM_001024288	NM_001024288	Rattus norvegicus hypothetical gene supported by BC079265 (LOC499279), mRNA [NM_001024288]	1,11	1,14	0,80
NM_001024299	NM_001024299	Rattus norvegicus similar to zinc finger protein 458 (LOC499563), mRNA [NM_001024299]	0,98	0,91	0,82
NM_001024329	NM_001024329	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4921507P07 (LOC500124), mRNA [NM_001024329]	0,94	0,87	0,77
NM_001024337	NM_001024337	Rattus norvegicus similar to osteoclast inhibitory lectin (LOC500331), mRNA [NM_001024337]	0,96	1,08	0,71
NM_001024352	NM_001024352	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ35821 (LOC500827), mRNA [NM_001024352]	0,81	0,94	0,76
NM_001024363	NM_001024363	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700052H20 (LOC501147), mRNA [NM_001024363]	1,01	0,91	0,66
NM_001024366	NM_001024366	Rattus norvegicus similar to ADP-ribosylation factor-like 2-like 1 isoform 1 (LOC501617), mRNA [NM_001024366]	1,12	1,00	0,68
NM_001024758	NM_001024758	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ36119 (LOC298692), mRNA [NM_001024758]	0,90	0,98	0,77
NM_001024790	NM_001024790	Rattus norvegicus ubiquitin specific protease 7 (herpes virus-associated) (predicted) (Usp7_predicted), mRNA [NM_001024790]	0,90	0,86	0,72
NM_001024886	NM_001024886	Rattus norvegicus hypothetical LOC309035 (predicted) (RGD1308893_predicted), mRNA [NM_001024886]	1,00	1,08	0,80
NM_001024891	NM_001024891	Rattus norvegicus hypothetical LOC316557 (predicted) (RGD1306477_predicted), mRNA [NM_001024891]	1,03	0,99	0,82
NM_001024893	NM_001024893	Rattus norvegicus similar to melanoma antigen family A, 5 (MGC114427), mRNA [NM_001024893]	0,94	1,00	0,74
NM_001025034	NM_001025034	Rattus norvegicus hypothetical protein LOC498796 (LOC498796), mRNA [NM_001025034]	0,85	0,73	0,83
NM_001025288	NM_001025288	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4921520P21 (MGC114388), mRNA [NM_001025288]	0,92	0,92	0,80
NM_001025419	NM_001025419	Rattus norvegicus Tax1 (human T-cell leukemia virus type I) binding protein 3 (predicted) (Tax1bp3_predicted), mRNA [NM_001025419]	0,79	0,79	0,71
NM_001025421	NM_001025421	Rattus norvegicus CUG triplet repeat, RNA binding protein 1 (predicted) (Cugbp1_predicted), mRNA [NM_001025421]	0,76	0,94	0,67
NM_001025631	NM_001025631	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein A330042H22 (predicted) (RGD1310837_predicted), mRNA [NM_001025631]	1,01	0,99	0,60
NM_001025697	NM_001025697	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2610207I16 (predicted) (RGD1305387_predicted), mRNA [NM_001025697]	1,00	0,82	0,56
NM_001025703	NM_001025703	Rattus norvegicus similar to D15Wsu75e protein (predicted) (RGD1305776_predicted), mRNA [NM_001025703]	0,98	0,90	0,73
NM_001025734	NM_001025734	Rattus norvegicus similar to Tada3l protein (LOC362414), mRNA [NM_001025734]	0,83	0,78	0,69
NM_001025747	NM_001025747	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA A430107J06 (MGC116126), mRNA [NM_001025747]	0,92	0,87	0,66
NM_053871	NM_053871	Rattus norvegicus signal recognition particle 54 (Srp54), mRNA [NM_053871]	1,00	0,97	0,75
Oit3	NM_001001507	Rattus norvegicus similar to oncoprotein-induced transcript 3 (Oit3), mRNA [NM_001001507]	1,00	1,13	0,80
Olr1696	NM_206850	Rattus norvegicus olfactory receptor 1696 (Olr1696), mRNA [NM_206850]	0,89	1,05	0,58
Olr390_predicted	NM_001000558	Rattus norvegicus olfactory receptor 390 (predicted) (Olr390_predicted), mRNA [NM_001000558]	1,01	1,02	0,82
Osbpl1a	NM_172023	Rattus norvegicus oxysterol binding protein-like 1A (Osbpl1a), mRNA [NM_172023]	1,04	0,89	0,80
Osbpl1a	NM_172023	Rattus norvegicus oxysterol binding protein-like 1A (Osbpl1a), mRNA [NM_172023]	0,96	0,95	0,81
Oxr1	XM_576258	PREDICTED: Rattus norvegicus oxidation resistance 1 (Oxr1), mRNA [XM_576258]	0,96	0,92	0,75
P2rx4	NM_031594	Rattus norvegicus purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 4 (P2rx4), mRNA [NM_031594]	0,86	0,90	0,65
P2rx7	NM_019256	Rattus norvegicus purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 7 (P2rx7), mRNA [NM_019256]	0,91	0,75	0,41
Pah	NM_012619	Rattus norvegicus phenylalanine hydroxylase (Pah), mRNA [NM_012619]	0,91	0,63	0,46
Pcaf_predicted	XM_217321	Rattus norvegicus similar to PCAF acetyltransferase; p300/CBP-associated factor (LOC301164), mRNA [XM_217321]	0,68	0,80	0,82
Pcdhga3	XM_344667	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to protocadherin gamma A1 (LOC498846), mRNA [XM_344667]	1,15	1,08	0,81
Pcsk4	NM_133559	Rattus norvegicus proprotein convertase subtilisin/kexin type 4 (Pcsk4), mRNA [NM_133559]	0,96	0,92	0,65
Pdcd4	NM_022265	Rattus norvegicus programmed cell death 4 (Pdcd4), mRNA [NM_022265]	0,94	0,85	0,70
Pde1a	NM_030871	Rattus norvegicus phosphodiesterase 1A, calmodulin-dependent (Pde1a), mRNA [NM_030871]	0,84	0,78	0,70
Pdk3	XM_216091	PREDICTED: Rattus norvegicus pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 3 (Pdk3), mRNA [XM_216091]	0,94	0,85	0,71
Pdk3	XM_216091	PREDICTED: Rattus norvegicus pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 3 (Pdk3), mRNA [XM_216091]	0,90	0,84	0,72
Pdk3	XM_216091	PREDICTED: Rattus norvegicus pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 3 (Pdk3), mRNA [XM_216091]	0,91	0,98	0,77
Pdk3	XM_216091	PREDICTED: Rattus norvegicus pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 3 (Pdk3), mRNA [XM_216091]	0,96	0,93	0,78
Pdk3	XM_216091	PREDICTED: Rattus norvegicus pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 3 (Pdk3), mRNA [XM_216091]	0,92	0,86	0,80
Pdk3	XM_216091	PREDICTED: Rattus norvegicus pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 3 (Pdk3), mRNA [XM_216091]	0,96	0,90	0,81

Pdzk8_predicted	XM_217651	PREDICTED: Rattus norvegicus PDZ domain containing 8 (predicted) (Pdzk8_predicted), mRNA [XM_217651]	0,83	0,66	0,59
Perc	NM_176075	Rattus norvegicus peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 beta (Perc), mRNA [NM_176075]	1,13	0,92	0,78
Pfkfb2	NM_080477	Rattus norvegicus 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase 2 (Pfkfb2), mRNA [NM_080477]	1,14	0,74	0,82
Pgk2_predicted	NM_001012130	Rattus norvegicus phosphoglycerate kinase 2 (predicted) (Pgk2_predicted), mRNA [NM_001012130]	1,01	0,94	0,70
Phf13_predicted	XM_233700	PREDICTED: Rattus norvegicus PHD finger protein 13 (predicted) (Phf13_predicted), mRNA [XM_233700]	0,93	1,04	0,76
Phospho1_predicted	XM_220877	PREDICTED: Rattus norvegicus phosphatase, orphan 1 (predicted) (Phospho1_predicted), mRNA [XM_220877]	0,98	0,98	0,79
Phyhip1_predicted	NM_001012076	Rattus norvegicus phytanoyl-CoA hydroxylase interacting protein-like (predicted) (Phyhip1_predicted), mRNA [NM_001012076]	1,00	0,98	0,82
Picalm	NM_053554	Rattus norvegicus phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein (Picalm), mRNA [NM_053554]	1,01	0,93	0,72
Pik3r3	NM_022213	Rattus norvegicus phosphatidylinositol 3 kinase, regulatory subunit, polypeptide 3 (Pik3r3), mRNA [NM_022213]	0,83	0,81	0,68
Plcz1	NM_001012234	Rattus norvegicus phospholipase C, zeta 1 (Plcz1), mRNA [NM_001012234]	0,89	0,81	0,64
Plcz1	NM_001012234	Rattus norvegicus phospholipase C, zeta 1 (Plcz1), mRNA [NM_001012234]	1,00	0,97	0,81
Plekhb1	NM_172033	Rattus norvegicus evectin-1 (Plekhb1), mRNA [NM_172033]	0,95	0,86	0,82
Plp	NM_030990	Rattus norvegicus proteolipid protein (Plp), mRNA [NM_030990]	1,04	1,01	0,82
Polk	XM_342178	PREDICTED: Rattus norvegicus polymerase (DNA directed) kappa (Polk), mRNA [XM_342178]	0,81	0,81	0,70
Ppp1r12b_predicted	XM_222656	PREDICTED: Rattus norvegicus protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 12B (predicted) (Ppp1r12b_predicted), mRNA [XM_222656]	1,04	1,08	0,81
Ppp2r2b	AY251277	Rattus norvegicus protein phosphatase 2A regulatory subunit B beta2 (Ppp2r2b) mRNA, complete cds; nuclear gene for mitochondrial product; alternatively spliced. [AY251277]	0,77	0,72	0,63
Ppp2r2b	AY251277	Rattus norvegicus protein phosphatase 2A regulatory subunit B beta2 (Ppp2r2b) mRNA, complete cds; nuclear gene for mitochondrial product; alternatively spliced. [AY251277]	0,81	0,91	0,72
Ppp2r2b	AY251277	Rattus norvegicus protein phosphatase 2A regulatory subunit B beta2 (Ppp2r2b) mRNA, complete cds; nuclear gene for mitochondrial product; alternatively spliced. [AY251277]	0,89	0,96	0,75
Ppp2r2b	AY251277	Rattus norvegicus protein phosphatase 2A regulatory subunit B beta2 (Ppp2r2b) mRNA, complete cds; nuclear gene for mitochondrial product; alternatively spliced. [AY251277]	0,86	0,89	0,76
Ppp2r2b	AY251277	Rattus norvegicus protein phosphatase 2A regulatory subunit B beta2 (Ppp2r2b) mRNA, complete cds; nuclear gene for mitochondrial product; alternatively spliced. [AY251277]	0,78	0,85	0,76
Ppp2r2b	AY251277	Rattus norvegicus protein phosphatase 2A regulatory subunit B beta2 (Ppp2r2b) mRNA, complete cds; nuclear gene for mitochondrial product; alternatively spliced. [AY251277]	0,86	0,94	0,77
Ppp2r2b	AY251277	Rattus norvegicus protein phosphatase 2A regulatory subunit B beta2 (Ppp2r2b) mRNA, complete cds; nuclear gene for mitochondrial product; alternatively spliced. [AY251277]	0,89	0,87	0,78
Ppp2r2b	NM_022209	Rattus norvegicus protein phosphatase 2 (formerly 2A), regulatory subunit B (PR 52), beta isoform (Ppp2r2b), mRNA [NM_022209]	0,85	0,95	0,78
Ppp2r2b	AY251277	Rattus norvegicus protein phosphatase 2A regulatory subunit B beta2 (Ppp2r2b) mRNA, complete cds; nuclear gene for mitochondrial product; alternatively spliced. [AY251277]	0,82	0,94	0,79
Ppp2r2b	AY251277	Rattus norvegicus protein phosphatase 2A regulatory subunit B beta2 (Ppp2r2b) mRNA, complete cds; nuclear gene for mitochondrial product; alternatively spliced. [AY251277]	0,84	0,91	0,79
Prkar2a	NM_019264	Rattus norvegicus protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type 2, alpha (Prkar2a), mRNA [NM_019264]	0,99	0,87	0,81
Prkcd	NM_133307	Rattus norvegicus protein kinase C, delta (Prkcd), mRNA [NM_133307]	0,91	0,93	0,82
Prkcm	XM_234108	PREDICTED: Rattus norvegicus protein kinase C, mu (Prkcm), mRNA [XM_234108]	0,82	0,89	0,79
Prrx1	NM_153821	Rattus norvegicus paired related homeobox 1 (Prrx1), mRNA [NM_153821]	0,91	0,94	0,62
Ptgds	NM_013015	Rattus norvegicus prostaglandin D2 synthase (Ptgds), mRNA [NM_013015]	0,86	0,74	0,69
Ptk9_predicted	NM_001008521	Rattus norvegicus protein tyrosine kinase 9 (predicted) (Ptk9_predicted), mRNA [NM_001008521]	0,89	0,78	0,74
Ptp4a1	NM_031579	Rattus norvegicus protein tyrosine phosphatase 4a1 (Ptp4a1), mRNA [NM_031579]	0,91	0,88	0,81
Pwpp2_predicted	XM_341955	PREDICTED: Rattus norvegicus PWWP domain containing 2 (predicted) (Pwpp2_predicted), mRNA [XM_341955]	0,87	0,78	0,77
R3hdm_predicted	XM_573442	PREDICTED: Rattus norvegicus R3H domain (binds single-stranded nucleic acids) containing (predicted) (R3hdm_predicted), mRNA [XM_573442]	0,94	0,86	0,66
Rab40c	NM_182675	Rattus norvegicus Rab40c, member RAS oncogene family (Rab40c), mRNA [NM_182675]	0,81	0,71	0,78
Rai14_predicted	NM_001011947	Rattus norvegicus retinoic acid induced 14 (predicted) (Rai14_predicted), mRNA [NM_001011947]	1,03	1,00	0,76
Ramp1	NM_031645	Rattus norvegicus receptor (calcitonin) activity modifying protein 1 (Ramp1), mRNA [NM_031645]	0,87	0,82	0,41
Rbm4_predicted	XM_215201	PREDICTED: Rattus norvegicus RNA binding motif protein 4 (predicted) (Rbm4_predicted), mRNA [XM_215201]	0,91	0,99	0,80
Rbms1_predicted	NM_001012184	Rattus norvegicus RNA binding motif, single stranded interacting protein 1 (predicted) (Rbms1_predicted), mRNA [NM_001012184]	0,86	0,94	0,77
Rdh11_predicted	NM_001012193	Rattus norvegicus retinol dehydrogenase 11 (predicted) (Rdh11_predicted), mRNA [NM_001012193]	0,84	1,01	0,67
Rffl	AY157969	Rattus norvegicus RING finger protein SAKURA mRNA, partial cds. [AY157969]	0,74	0,88	0,59
Rfx3_predicted	NM_001012172	Rattus norvegicus regulatory factor X, 3 (influences HLA class II expression) (predicted) (Rfx3_predicted), mRNA [NM_001012172]	0,86	0,88	0,76
RGD:1302959	NM_022501	Rattus norvegicus cysteine-rich protein 2 (Crip2), mRNA [NM_022501]	0,80	0,81	0,62
RGD:1302959	NM_022501	Rattus norvegicus cysteine-rich protein 2 (Crip2), mRNA [NM_022501]	0,77	0,93	0,72
RGD:1302970	NM_001008865	Rattus norvegicus testis-specific serine protease-6 (Tessp6), mRNA [NM_001008865]	0,90	0,96	0,76
RGD:1303001	NM_001002278	Rattus norvegicus protein O-fucosyltransferase 1 (Pofut1), mRNA [NM_001002278]	0,74	0,90	0,73
RGD:1303054	NM_001009174	Rattus norvegicus trypsin X3 (Tryx3), mRNA [NM_001009174]	0,98	0,98	0,83
RGD:1303080	NM_001002833	Rattus norvegicus Sumo1/sentrin/Smt3 specific protease 17 (Senp17), mRNA [NM_001002833]	0,75	0,99	0,75

RGD:1303098	NM_001002808	Rattus norvegicus carboxypeptidase A5 (Cpa5), mRNA [NM_001002808]	0,82	0,87	0,78
RGD:1303142	NM_201560	Rattus norvegicus oxidative stress responsive 1 (osr1), mRNA [NM_201560]	0,81	0,90	0,71
RGD:1303154	NM_001001800	Rattus norvegicus ring finger protein 141 (rnf141), mRNA [NM_001001800]	0,84	0,86	0,81
RGD:1303237	NM_212524	Rattus norvegicus CGI-58-like protein (LOC316122), mRNA [NM_212524]	0,96	0,98	0,69
RGD:1303240	NM_001004264	Rattus norvegicus TRAF4 associated factor 1 (C15orf23), mRNA [NM_001004264]	0,89	0,86	0,69
RGD:1303273	NM_001003654	Rattus norvegicus par-6 (partitioning defective 6), homolog alpha (C. elegans) (Par-6a), transcript variant 2, mRNA [NM_001003654]	0,87	0,80	0,69
RGD:1303329	AY588414	Rattus norvegicus harmonin a1 (Ush1c) mRNA, complete cds; alternatively spliced [AY588414]	1,06	0,94	0,62
RGD:1303337	NM_212459	Rattus norvegicus ADP-ribosylation factor-like 9 (Arl9), mRNA [NM_212459]	1,09	0,97	0,75
RGD:628674	NM_153732	Rattus norvegicus zinc finger protein HIT-4 (Hit4), mRNA [NM_153732]	1,10	0,91	0,71
RGD:735032	XM_214931	PREDICTED: Rattus norvegicus kallikrein (LOC292872), mRNA [XM_214931]	1,08	1,02	0,72
RGD1304643_predicted	XM_343465	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to asteroid CG4426-PA (predicted) (RGD1304643_predicted), mRNA [XM_343465]	1,03	1,18	0,79
RGD1304646_predicted	XM_224449	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to mitotic control protein dis3 homolog (predicted) (LOC306103), mRNA [XM_224449]	1,04	1,05	0,74
RGD1304936_predicted	XM_230569	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1300002C08 gene (predicted) (LOC311403), mRNA [XM_230569]	0,87	0,84	0,73
RGD1305063_predicted	XM_220737	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Rab11-FIP4-like (predicted) (LOC303337), mRNA [XM_220737]	0,83	0,69	0,65
RGD1305176_predicted	XM_236612	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to mKIAA0800 protein (predicted) (LOC315987), mRNA [XM_236612]	1,07	0,82	0,71
RGD1305183_predicted	XM_214549	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ12542 (predicted) (LOC291540), mRNA [XM_214549]	0,92	0,96	0,72
RGD1305337_predicted	XM_224885	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to tripartite motif-containing 11 (predicted) (LOC290767), mRNA [XM_224885]	1,04	1,07	0,82
RGD1305423_predicted	XM_221021	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 4921510J17Rik protein (predicted) (RGD1305423_predicted), mRNA [XM_221021]	1,11	1,11	0,73
RGD1305433_predicted	XM_340988	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4921521N14 (predicted) (LOC360717), mRNA [XM_340988]	0,82	0,86	0,63
RGD1305453_predicted	XM_216546	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2410166I05 (LOC298549), mRNA [XM_216546]	0,84	0,78	0,62
RGD1305606_predicted	XM_226388	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to mKIAA1046 protein (predicted) (RGD1305606_predicted), mRNA [XM_226388]	0,86	0,86	0,70
RGD1305939_predicted	XM_216985	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC300074 (predicted) (LOC300074), mRNA [XM_216985]	0,82	0,92	0,83
RGD1305960_predicted	XM_216482	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 0610040B21 (predicted) (LOC298370), mRNA [XM_216482]	1,17	1,26	0,83
RGD1306023_predicted	XM_214360	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to reproduction 8 (predicted) (LOC290802), mRNA [XM_214360]	0,75	0,73	0,70
RGD1306208_predicted	XM_215978	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC296483 (predicted) (LOC296483), mRNA [XM_215978]	0,88	0,92	0,82
RGD1306462_predicted	XM_235557	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700019P01 (LOC315214), mRNA [XM_235557]	1,01	0,94	0,76
RGD1306632_predicted	XM_235839	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC315438), mRNA [XM_235839]	1,02	0,94	0,76
RGD1306995_predicted	XM_221441	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ32859 (predicted) (LOC288094), mRNA [XM_221441]	0,92	0,77	0,72
RGD1307315_predicted	NM_001008377	Rattus norvegicus LOC362793 (predicted) (RGD1307315_predicted), mRNA [NM_001008377]	0,98	0,86	0,82
RGD1307509_predicted	XM_227072	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700108L22 (LOC310348), mRNA [XM_227072]	0,92	1,00	0,79
RGD1308112_predicted	XM_222652	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 40S ribosomal protein S7 (S8) (predicted) (LOC289038), mRNA [XM_222652]	0,92	0,84	0,64
RGD1308133_predicted	XM_235409	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700010C24 (predicted) (LOC315069), mRNA [XM_235409]	0,91	0,85	0,81
RGD1308632_predicted	XM_342262	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4931432L23 (LOC361964), mRNA [XM_342262]	1,06	1,17	0,78
RGD1308775_predicted	XM_223559	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4921536K21 (predicted) (LOC305476), mRNA [XM_223559]	0,94	0,88	0,78
RGD1309170_predicted	XM_342349	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein DKFZp434G072 (predicted) (LOC362047), mRNA [XM_342349]	1,02	0,98	0,83
RGD1309291_predicted	XM_232952	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4930547C10 (predicted) (LOC298051), mRNA [XM_232952]	0,94	0,95	0,76
RGD1309526_predicted	NM_001010966	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ20477 (predicted) (RGD1309526_predicted), mRNA [NM_001010966]	0,66	0,80	0,64
RGD1309660_predicted	XM_226652	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC33214 (predicted) (LOC309953), mRNA [XM_226652]	0,88	0,99	0,81
RGD1309839_predicted	XM_225627	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC26778 (predicted) (LOC291354), mRNA [XM_225627]	1,10	1,00	0,78
RGD1309871_predicted	XM_219541	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 5730596K20 (predicted) (LOC309187), mRNA [XM_219541]	0,98	0,95	0,77
RGD1310110_predicted	XM_341307	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 3632451O06Rik protein (predicted) (LOC361032), mRNA [XM_341307]	0,99	0,73	0,47
RGD1310165_predicted	XM_342416	Rattus norvegicus LOC362113 (LOC362113), mRNA [XM_342416]	0,97	1,25	0,69
RGD1310358_predicted	XM_218532	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to NNX3 (predicted) (LOC308537), mRNA [XM_218532]	1,03	0,91	0,79
RGD1310400_predicted	XM_226205	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ35894 (predicted) (LOC307615), mRNA [XM_226205]	0,98	0,86	0,80
RGD1310422_predicted	XM_341206	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC2714 (predicted) (LOC360928), mRNA [XM_341206]	0,89	0,89	0,81
RGD1310507_predicted	XM_236574	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1300017J02 (predicted) (RGD1310507_predicted), mRNA [XM_236574]	0,75	0,77	0,71
RGD1310624_predicted	XM_343235	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to chronic myelogenous leukemia tumor antigen 66 (predicted) (LOC362906), mRNA [XM_343235]	0,86	0,89	0,71
RGD1310683_predicted	XM_237211	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ40432 (predicted) (LOC316452), mRNA [XM_237211]	0,96	0,89	0,74
RGD1310953_predicted	NM_001008366	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2610510J17 (predicted) (RGD1310953_predicted), mRNA [NM_001008366]	1,04	1,05	0,81
RGD1311099_predicted	XM_226323	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Fantom protein (predicted) (LOC307724), mRNA [XM_226323]	1,06	0,98	0,81
RGD1311271_predicted	NM_001008556	Rattus norvegicus similar to chromosome 9 open reading frame 12; 1,3,4,5,6-pentakisphosphate 2-kinase (predicted) (RGD1311271_predicted), mRNA [NM_001008556]	1,01	0,82	0,77
RGD1311429_predicted	XM_340920	Rattus norvegicus similar to KIAA1267 protein (LOC360642), mRNA [XM_340920]	0,97	0,91	0,78
RGD1311563_predicted	XM_343499	Rattus norvegicus similar to Oligosaccharyl transferase 3 CG7748-PA (LOC363160), mRNA [XM_343499]	0,86	0,78	0,75
RGD1311622_predicted	XM_216348	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1110063F24 (predicted) (LOC297890), mRNA [XM_216348]	1,03	1,01	0,76

RGD1311657_predicted	XM_226078	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 2610304F09 (predicted) (LOC307527), mRNA [XM_226078]	0,93	0,88	0,65
RGD1311813_predicted	XM_220818	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2610020H15 (predicted) (LOC303407), mRNA [XM_220818]	0,96	0,91	0,77
RGD1311822_predicted	XM_227686	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ13273 (predicted) (LOC310855), mRNA [XM_227686]	0,91	1,00	0,75
RGD1311956_predicted	XM_345221	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2310035M22 (predicted) (LOC365813), mRNA [XM_345221]	1,08	0,91	0,82
Rgl1_predicted	XM_222717	PREDICTED: Rattus norvegicus ral guanine nucleotide dissociation stimulator-like 1 (predicted) (Rgl1_predicted), mRNA [XM_222717]	0,88	0,82	0,53
Riok1_predicted	XM_214454	PREDICTED: Rattus norvegicus RIO kinase 1 (yeast) (predicted) (Riok1_predicted), mRNA [XM_214454]	1,16	0,92	0,81
Ris1	NM_057212	Rattus norvegicus Ras-induced senescence 1 (Ris1), mRNA [NM_057212]	0,94	0,87	0,82
Rkhd2_predicted	XM_225735	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger and KH domain containing 2 (predicted) (Rkhd2_predicted), mRNA [XM_225735]	1,01	0,91	0,72
Rkhd2_predicted	XM_225735	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger and KH domain containing 2 (predicted) (Rkhd2_predicted), mRNA [XM_225735]	1,22	0,99	0,75
Rkhd2_predicted	XM_225735	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger and KH domain containing 2 (predicted) (Rkhd2_predicted), mRNA [XM_225735]	0,86	1,04	0,79
Rkhd2_predicted	XM_225735	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger and KH domain containing 2 (predicted) (Rkhd2_predicted), mRNA [XM_225735]	0,99	0,98	0,82
Rkhd2_predicted	XM_225735	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger and KH domain containing 2 (predicted) (Rkhd2_predicted), mRNA [XM_225735]	1,21	1,16	0,83
Rkhd2_predicted	XM_225735	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger and KH domain containing 2 (predicted) (Rkhd2_predicted), mRNA [XM_225735]	0,97	1,01	0,83
Rkhd2_predicted	XM_225735	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger and KH domain containing 2 (predicted) (Rkhd2_predicted), mRNA [XM_225735]	1,14	1,09	0,83
Rnf11_predicted	XM_237327	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger protein 11 (predicted) (Rnf11_predicted), mRNA [XM_237327]	0,86	0,82	0,75
Rnf146_predicted	NM_001012060	Rattus norvegicus ring finger protein 146 (predicted) (Rnf146_predicted), mRNA [NM_001012060]	0,78	0,82	0,75
Rnf24_predicted	XM_342522	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger protein 24 (predicted) (Rnf24_predicted), mRNA [XM_342522]	1,03	0,92	0,77
Rnf38	NM_134467	Rattus norvegicus ring finger protein 38 (Rnf38), mRNA [NM_134467]	1,02	0,94	0,77
Rnf4	NM_019182	Rattus norvegicus ring finger protein 4 (Rnf4), mRNA [NM_019182]	1,06	1,00	0,63
Rnf41_predicted	NM_001012195	Rattus norvegicus ring finger protein 41 (predicted) (Rnf41_predicted), mRNA [NM_001012195]	0,98	1,02	0,75
Robo2	XM_213677	PREDICTED: Rattus norvegicus roundabout 2 (Drosophila) (Robo2), mRNA [XM_213677]	0,57	0,86	0,71
Rp111_predicted	XM_223182	PREDICTED: Rattus norvegicus retinitis pigmentosa 1-like 1 (predicted) (Rp111_predicted), mRNA [XM_223182]	1,04	1,00	0,81
Rsn	NM_031745	Rattus norvegicus restin (Reed-Steinberg cell-expressed intermediate filament-associated protein) (Rsn), mRNA [NM_031745]	1,02	1,00	0,83
RT1-Bb	NM_001004084	Rattus norvegicus RT1 class II, locus Bb (RT1-Bb), mRNA [NM_001004084]	0,96	1,11	0,76
RT1-Db1	NM_001008884	Rattus norvegicus RT1 class II, locus Db1 (RT1-Db1), mRNA [NM_001008884]	0,80	0,96	0,64
Rtdr1_predicted	XM_345095	PREDICTED: Rattus norvegicus rhabdoid tumor deletion region gene 1 (predicted) (Rtdr1_predicted), mRNA [XM_345095]	1,07	0,94	0,77
Sars2_predicted	XM_214884	PREDICTED: Rattus norvegicus seryl-tRNA synthetase 2 (predicted) (Sars2_predicted), mRNA [XM_214884]	0,93	0,98	0,80
Sat2_predicted	XM_340825	PREDICTED: Rattus norvegicus spermidine/spermine N1-acetyl transferase 2 (predicted) (Sat2_predicted), mRNA [XM_340825]	1,21	0,94	0,71
Scd2	NM_031841	Rattus norvegicus stearyl-Coenzyme A desaturase 2 (Scd2), mRNA [NM_031841]	0,94	0,99	0,79
Sept-02	NM_057148	Rattus norvegicus septin 2 (Sept2), mRNA [NM_057148]	0,95	0,95	0,71
Sgca_predicted	XM_220884	PREDICTED: Rattus norvegicus sarcoglycan, alpha (dystrophin-associated glycoprotein) (predicted) (Sgca_predicted), mRNA [XM_220884]	0,91	0,68	0,52
Sip1	NM_053389	Rattus norvegicus survival of motor neuron protein interacting protein 1 (Sip1), mRNA [NM_053389]	0,99	0,91	0,75
Slc30a1	NM_022853	Rattus norvegicus solute carrier family 30 (zinc transporter), member 1 (Slc30a1), mRNA [NM_022853]	0,95	0,91	0,83
Slc37a4	NM_031589	Rattus norvegicus solute carrier family 37 (glycerol-6-phosphate transporter), member 4 (Slc37a4), mRNA [NM_031589]	0,78	0,85	0,78
Slc39a10_predicted	XM_343567	PREDICTED: Rattus norvegicus solute carrier family 39 (zinc transporter), member 10 (predicted) (Slc39a10_predicted), mRNA [XM_343567]	0,83	0,98	0,77
Slc4a3	NM_017049	Rattus norvegicus solute carrier family 4, member 3 (Slc4a3), mRNA [NM_017049]	0,93	0,98	0,79
Slc9a2	NM_012653	Rattus norvegicus solute carrier family 9, member 2 (Slc9a2), mRNA [NM_012653]	1,26	0,84	0,68
Snap23	NM_022689	Rattus norvegicus synaptosomal-associated protein 23 (Snap23), mRNA [NM_022689]	0,91	0,85	0,79
Snap29	NM_053810	Rattus norvegicus synaptosomal-associated protein 29 (Snap29), mRNA [NM_053810]	0,93	0,84	0,73
Snrk	NM_138833	Rattus norvegicus SNF related kinase (Snrk), mRNA [NM_138833]	0,89	0,94	0,77
Snx13_predicted	XM_343053	PREDICTED: Rattus norvegicus sorting nexin 13 (predicted) (Snx13_predicted), mRNA [XM_343053]	1,02	0,95	0,78
Socs7_predicted	XM_213443	PREDICTED: Rattus norvegicus suppressor of cytokine signaling 7 (predicted) (Socs7_predicted), mRNA [XM_213443]	0,78	0,81	0,70
Son_predicted	XM_221656	PREDICTED: Rattus norvegicus Son cell proliferation protein (predicted) (Son_predicted), mRNA [XM_221656]	1,00	0,85	0,78
Spam	NM_053967	Rattus norvegicus sperm adhesion molecule (Spam), mRNA [NM_053967]	1,03	1,24	0,79
Spata7	NM_138862	Rattus norvegicus spermatogenesis associated 7 (Spata7), mRNA [NM_138862]	0,76	0,91	0,80
Srpr_predicted	XM_235989	PREDICTED: Rattus norvegicus signal recognition particle receptor ('docking protein') (predicted) (Srpr_predicted), mRNA [XM_235989]	0,82	0,88	0,64
Ssg1	XM_573284	PREDICTED: Rattus norvegicus steroid sensitive gene 1 (Ssg1), mRNA [XM_573284]	0,85	0,60	0,63
Stk22c	NM_001007650	Rattus norvegicus serine/threonine kinase 22C (Stk22c), mRNA [NM_001007650]	0,91	0,81	0,72
Taf1a_predicted	XM_341167	PREDICTED: Rattus norvegicus TATA box binding protein (Tbp)-associated factor, RNA polymerase I, A (predicted) (Taf1a_predicted), mRNA [XM_341167]	0,90	1,07	0,79
Tbc1d14_predicted	NM_001012152	Rattus norvegicus TBC1 domain family, member 14 (predicted) (Tbc1d14_predicted), mRNA [NM_001012152]	0,95	0,93	0,82
TC523749	TC523749	BC024109 guanosine monophosphate reductase 2 {Mus musculus;}, partial (16%) [TC523749]	0,85	0,89	0,67
TC524582	TC524582	Unknown	0,81	0,90	0,68
TC525136	TC525136	C79B_MOUSE (P15530) B-cell antigen receptor complex associated protein beta-chain precursor (B-cell-specific glycoprotein B29) (Immunoglobulin-associated B29 protein) (IG-beta) (CD79B), partial (5%) [TC525136]	0,92	1,00	0,78
TC525497	TC525497	Unknown	0,62	0,51	0,74

TC526087	TC526087	Unknown	0,96	0,90	0,74
TC526795	TC526795	Unknown	0,96	1,18	0,68
TC528645	TC528645	Unknown	1,05	1,20	0,70
TC530262	TC530262	Unknown	0,72	0,83	0,78
TC532898	TC532898	Unknown	1,00	1,00	0,20
TC535478	TC535478	Unknown	1,00	0,88	0,58
TC538629	TC538629	VIS2_RAT (P35332) Visinin-like protein 2 (VILIP-2) (Neural visinin-like protein 2) (NVL-2) (NVP-2), complete [TC538629]	0,98	1,11	0,80
TC540333	TC540333	Q8JQW9 (Q8JQW9) Polyprotein (Fragment), partial (5%) [TC540333]	0,79	0,81	0,34
TC541150	TC541150	Unknown	0,98	0,88	0,82
TC544685	TC544685	Unknown	0,93	1,03	0,60
TC545284	TC545284	Unknown	0,90	0,94	0,75
TC545741	TC545741	Unknown	0,79	0,81	0,68
TC547349	TC547349	Unknown	1,03	0,87	0,76
TC548874	TC548874	Unknown	0,85	0,89	0,81
TC552370	TC552370	Q6MG84 (Q6MG84) NG3 protein, partial (32%) [TC552370]	1,14	0,76	0,79
TC556515	TC556515	Unknown	1,08	1,09	0,74
TC556681	TC556681	GP1_CHLRE (Q9FPQ6) Vegetative cell wall protein gp1 precursor (Hydroxyproline-rich glycoprotein 1), partial (5%) [TC556681]	0,87	0,83	0,61
TC561516	TC561516	Unknown	0,99	0,78	0,78
TC565549	TC565549	Q9D424 (Q9D424) Mus musculus adult male testis cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:4933421A18 product:CALCIUM BINDING PROTEIN CBP86-2 homolog (Calcium binding protein CBP86-1) (Calcium binding protein CBP86-6), partial (46%) [TC565549]	1,07	0,93	0,76
TC568357	TC568357	Unknown	0,82	0,87	0,81
Tceb3bp1_predicted	XM_576183	PREDICTED: Rattus norvegicus transcription elongation factor B polypeptide 3 binding protein 1 (predicted) (Tceb3bp1_predicted), mRNA [XM_576183]	0,76	0,82	0,70
Tepp	NM_201655	Rattus norvegicus testis/prostate/placenta-expressed protein (Tepp), mRNA [NM_201655]	0,80	0,71	0,78
Terf1_predicted	NM_001012464	Rattus norvegicus telomeric repeat binding factor 1 (predicted) (Terf1_predicted), mRNA [NM_001012464]	0,67	0,82	0,59
Tes3_predicted	XM_227048	PREDICTED: Rattus norvegicus testis derived transcript 3 (predicted) (Tes3_predicted), mRNA [XM_227048]	0,96	0,94	0,78
Tgfr3	NM_017256	Rattus norvegicus transforming growth factor, beta receptor 3 (Tgfr3), mRNA [NM_017256]	0,96	0,94	0,71
Tgm1	NM_031659	Rattus norvegicus transglutaminase 1 (Tgm1), mRNA [NM_031659]	0,67	0,66	0,70
Tinf2	NM_001006962	Rattus norvegicus TERF1 (TRF1)-interacting nuclear factor 2 (Tinf2), mRNA [NM_001006962]	0,99	0,96	0,81
Tjp1_predicted	XM_218747	PREDICTED: Rattus norvegicus tight junction protein 1 (predicted) (Tjp1_predicted), mRNA [XM_218747]	0,79	0,88	0,76
Tmeff1	NM_023020	Rattus norvegicus transmembrane protein with EGF-like and two follistatin-like domains 1 (Tmeff1), mRNA [NM_023020]	1,00	1,09	0,82
Tmem16f_predicted	XM_235640	PREDICTED: Rattus norvegicus transmembrane protein 16F (predicted) (Tmem16f_predicted), mRNA [XM_235640]	0,76	0,79	0,62
Tmf1	NM_053671	Rattus norvegicus TATA element modulatory factor 1 (Tmf1), mRNA [NM_053671]	1,01	0,71	0,81
Tmod3_predicted	NM_001011997	Rattus norvegicus tropomodulin 3 (predicted) (Tmod3_predicted), mRNA [NM_001011997]	1,17	0,79	0,81
Tmx2	NM_001007643	Rattus norvegicus thioredoxin-related transmembrane protein 2 (Tmx2), mRNA [NM_001007643]	0,87	0,96	0,76
Tncc_predicted	XM_214266	PREDICTED: Rattus norvegicus troponin C, cardiac/slow skeletal (predicted) (Tncc_predicted), mRNA [XM_214266]	0,94	1,03	0,73
Ton	NM_012677	Rattus norvegicus tonin (Ton), mRNA [NM_012677]	1,09	1,11	0,78
Tpd52l2	NM_198744	Rattus norvegicus tumor protein D52-like 2 (Tpd52l2), mRNA [NM_198744]	0,81	0,92	0,76
Trpm4	XM_574447	PREDICTED: Rattus norvegicus transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 4 (Trpm4), mRNA [XM_574447]	0,88	0,95	0,63
Tsc1	NM_021854	Rattus norvegicus tuberous sclerosis 1 (Tsc1), mRNA [NM_021854]	0,78	0,92	0,68
Tube1_predicted	XM_342151	PREDICTED: Rattus norvegicus tubulin, epsilon 1 (predicted) (Tube1_predicted), mRNA [XM_342151]	0,88	0,83	0,64
U78139	U78139	Rattus norvegicus zinc finger protein 11 (DZF11) mRNA, partial cds. [U78139]	1,12	1,00	0,67
Uap1_predicted	XM_222863	PREDICTED: Rattus norvegicus UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase 1 (predicted) (Uap1_predicted), mRNA [XM_222863]	0,95	0,86	0,83
Ube2j1_predicted	XM_216362	PREDICTED: Rattus norvegicus ubiquitin-conjugating enzyme E2, J1 (predicted) (Ube2j1_predicted), mRNA [XM_216362]	1,08	1,08	0,69
Ube2n	NM_053928	Rattus norvegicus ubiquitin-conjugating enzyme E2N (Ube2n), mRNA [NM_053928]	0,92	0,87	0,83
Ube2v2	NM_183052	Rattus norvegicus ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 2 (Ube2v2), mRNA [NM_183052]	0,91	0,85	0,83
Ubqln1	NM_053747	Rattus norvegicus ubiquitin 1 (Ubqln1), mRNA [NM_053747]	0,92	0,85	0,81
Usp25_predicted	XM_221722	PREDICTED: Rattus norvegicus ubiquitin specific protease 25 (predicted) (Usp25_predicted), mRNA [XM_221722]	0,98	0,97	0,82
Usp37_predicted	XM_237289	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4932415L06 gene (LOC316522), mRNA [XM_237289]	0,85	0,97	0,77
Usp38_predicted	XM_226362	PREDICTED: Rattus norvegicus ubiquitin specific protease 38 (predicted) (Usp38_predicted), mRNA [XM_226362]	0,85	0,81	0,76
Usp44_predicted	XM_235070	PREDICTED: Rattus norvegicus ubiquitin specific protease 44 (predicted) (Usp44_predicted), mRNA [XM_235070]	0,93	0,87	0,76
Vgf	NM_030997	Rattus norvegicus VGF nerve growth factor inducible (Vgf), mRNA [NM_030997]	0,67	0,85	0,66
Vmd2_predicted	NM_001011940	Rattus norvegicus vitelliform macular dystrophy (Best disease, bestrophin) (predicted) (Vmd2_predicted), mRNA [NM_001011940]	1,02	1,05	0,77
Wdhd1_predicted	XM_223933	PREDICTED: Rattus norvegicus WD repeat and HMG-box DNA binding protein 1 (predicted) (Wdhd1_predicted), mRNA [XM_223933]	0,63	0,93	0,48
Wdr37_predicted	XM_225512	PREDICTED: Rattus norvegicus WD repeat domain 37 (predicted) (Wdr37_predicted), mRNA [XM_225512]	0,89	0,88	0,76
Wnt8b_predicted	XM_219959	PREDICTED: Rattus norvegicus wingless related MMTV integration site 8b (predicted) (Wnt8b_predicted), mRNA [XM_219959]	0,93	0,93	0,79

XM_229323	XM_229323	Rattus norvegicus similar to Spindlin-like protein 2 (SPIN-2) (LOC301844), mRNA [XM_229323]	0,99	0,99	0,79
XM_229548	XM_229548	Rattus norvegicus similar to Spindlin-like protein 2 (SPIN-2) (LOC302012), mRNA [XM_229548]	1,01	1,06	0,80
XM_232947	XM_232947	Rattus norvegicus hypothetical LOC313204 (LOC313204), mRNA [XM_232947]	1,00	0,88	0,71
XM_233137	XM_233137	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC35182 (LOC313337), mRNA [XM_233137]	0,93	0,86	0,69
XM_341420	XM_341420	Rattus norvegicus similar to ADP-ribosylation factor guanine nucleotide factor 6; hepatocellular carcinoma-associated antigen 67 (LOC361134), mRNA [XM_341420]	1,00	0,89	0,80
XM_344716	XM_344716	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700081O22 (LOC364923), mRNA [XM_344716]	0,97	1,11	0,80
XM_344759	XM_344759	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4931428F04 gene (LOC364992), mRNA [XM_344759]	0,91	0,99	0,73
XM_345094	XM_345094	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4930583C14 (LOC365551), mRNA [XM_345094]	0,98	0,99	0,74
XM_346153	XM_346153	Rattus norvegicus similar to Spindlin homolog (Protein DXF34) (LOC367474), mRNA [XM_346153]	1,04	1,06	0,82
XM_573162	XM_573162	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to novel protein (LOC497970), mRNA [XM_573162]	0,90	0,91	0,82
XM_573237	XM_573237	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CKT2 (LOC498036), mRNA [XM_573237]	0,91	0,94	0,80
XM_573274	XM_573274	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to testes development-related NYD-SP17 (LOC498073), mRNA [XM_573274]	1,03	1,05	0,80
XM_573344	XM_573344	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC40178 (LOC498133), mRNA [XM_573344]	0,97	1,00	0,80
XM_573959	XM_573959	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical gene supported by AK029636; BC048562 (LOC498677), mRNA [XM_573959]	0,96	0,87	0,78
XM_574052	XM_574052	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4930474N05 (LOC498766), mRNA [XM_574052]	1,04	1,13	0,82
XM_574053	XM_574053	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ankyrin repeat domain 26 (LOC498767), mRNA [XM_574053]	0,97	1,04	0,81
XM_574056	XM_574056	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to serine/threonine kinase (LOC498770), mRNA [XM_574056]	0,94	0,77	0,63
XM_574504	XM_574504	PREDICTED: Rattus norvegicus nucleoporin 98 (Nup98), mRNA [XM_574504]	1,02	0,94	0,76
XM_574904	XM_574904	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to DnaJ homolog subfamily C member 5B (Beta cysteine string protein) (Beta-CSP) (LOC499579), mRNA [XM_574904]	1,02	1,03	0,83
XM_574906	XM_574906	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Eif4g1 protein (LOC499581), mRNA [XM_574906]	0,91	0,94	0,69
XM_575024	XM_575024	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ10287 (LOC499697), mRNA [XM_575024]	1,02	1,08	0,83
XM_575081	XM_575081	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical gene supported by AK097565; BC033939 (LOC499746), mRNA [XM_575081]	0,90	0,84	0,80
XM_575205	XM_575205	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700095F04 (LOC366158), mRNA [XM_575205]	0,90	0,70	0,73
XM_575298	XM_575298	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to BC040823 protein (LOC499950), mRNA [XM_575298]	0,91	0,88	0,81
XM_575319	XM_575319	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Gene model 443 (LOC499967), mRNA [XM_575319]	0,90	0,93	0,81
XM_575333	XM_575333	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC499979 (LOC499979), mRNA [XM_575333]	1,10	0,90	0,81
XM_575406	XM_575406	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ankyrin repeat domain-containing SOCS box protein Asb-15 (LOC500050), mRNA [XM_575406]	0,78	0,85	0,56
XM_575549	XM_575549	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ25369 (LOC500197), mRNA [XM_575549]	0,89	0,89	0,78
XM_575581	XM_575581	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ12056 (LOC500230), mRNA [XM_575581]	0,94	0,80	0,66
XM_575707	XM_575707	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to C030030A07Rik protein (LOC500354), mRNA [XM_575707]	0,88	0,83	0,62
XM_575777	XM_575777	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Leucine-rich repeat protein SHOC-2 (Ras-binding protein Sur-8) (LOC500415), mRNA [XM_575777]	0,88	0,83	0,63
XM_575834	XM_575834	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Zinc-finger protein 37 (LOC500470), mRNA [XM_575834]	0,91	0,79	0,70
XM_575866	XM_575866	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4930579C15 (LOC500502), mRNA [XM_575866]	1,03	0,90	0,80
XM_575875	XM_575875	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical gene supported by BC079057 (LOC500513), mRNA [XM_575875]	0,89	0,87	0,70
XM_575898	XM_575898	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC500537 (LOC500537), mRNA [XM_575898]	0,91	0,90	0,73
XM_575969	XM_575969	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ32825 (LOC500595), mRNA [XM_575969]	0,89	0,93	0,73
XM_576037	XM_576037	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein (LOC500659), mRNA [XM_576037]	0,90	0,92	0,66
XM_576069	XM_576069	PREDICTED: Rattus norvegicus a disintegrin and metalloprotease domain 4 (Adam4), mRNA [XM_576069]	0,86	0,77	0,66
XM_576069	XM_576069	PREDICTED: Rattus norvegicus a disintegrin and metalloprotease domain 4 (Adam4), mRNA [XM_576069]	0,89	0,87	0,73
XM_576248	XM_576248	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to DKFZP434I092 protein (LOC500853), mRNA [XM_576248]	0,90	0,88	0,78
XM_576251	XM_576251	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 3110006P09 (LOC500855), mRNA [XM_576251]	0,76	0,93	0,79
XM_576251	XM_576251	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 3110006P09 (LOC500855), mRNA [XM_576251]	0,94	0,91	0,83
XM_576327	XM_576327	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to shippo 1 (LOC500917), mRNA [XM_576327]	0,94	0,86	0,74
XM_576413	XM_576413	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to PGC7 (LOC501003), mRNA [XM_576413]	0,94	0,94	0,70
XM_576553	XM_576553	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC501133 (LOC501133), mRNA [XM_576553]	1,31	1,08	0,71
XM_576553	XM_576553	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC501133 (LOC501133), mRNA [XM_576553]	1,15	1,05	0,72
XM_576786	XM_576786	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC501373 (LOC501373), mRNA [XM_576786]	1,05	0,88	0,80
XM_577028	XM_577028	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to melanoma associated antigen (mutated) 1-like 1 (LOC501630), mRNA [XM_577028]	1,02	1,02	0,82
XM_577424	XM_577424	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to dehydrogenase/reductase member 2 (LOC501997), mRNA [XM_577424]	0,85	0,77	0,70
XM_578907	XM_578907	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to spermiogenesis specific transcript on the Y 2 (LOC503368), mRNA [XM_578907]	0,82	0,99	0,77
XM_578907	XM_578907	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to spermiogenesis specific transcript on the Y 2 (LOC503368), mRNA [XM_578907]	0,91	0,98	0,78
XM_578907	XM_578907	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to spermiogenesis specific transcript on the Y 2 (LOC503368), mRNA [XM_578907]	1,01	1,04	0,82
XM_579834	XM_579834	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC498535 (LOC498535), mRNA [XM_579834]	1,18	1,13	0,78
Xpnp1	NM_131913	Rattus norvegicus X-prolyl aminopeptidase (aminopeptidase P) 1, soluble (Xpnp1), mRNA [NM_131913]	0,88	0,79	0,74

Xpnpep1	NM_131913	Rattus norvegicus X-prolyl aminopeptidase (aminopeptidase P) 1, soluble (Xpnpep1), mRNA [NM_131913]	0,93	0,89	0,82
Zdhhc13_predicted	XM_344895	PREDICTED: Rattus norvegicus zinc finger, DHHC domain containing 13 (predicted) (Zdhhc13_predicted), mRNA [XM_344895]	0,84	0,75	0,82
Znf297	NM_001009172	Rattus norvegicus zinc finger protein 297 (Znf297), mRNA [NM_001009172]	0,91	0,90	0,66
Znf498_predicted	XM_344076	PREDICTED: Rattus norvegicus zinc finger protein 498 (predicted) (Znf498_predicted), mRNA [XM_344076]	1,09	1,01	0,76

3. Table c : Protéines statistiquement modulées 24 h et 48 h après une administration unique de 150 mg/kg de FM

3.1 Liste des protéines modulées à 24 h

SSP	Control	Ratio	Treated_24h	Ratio
26	359,8	1	193,5	0,54
1017	71,3	1	27,7	0,39
1026	180,1	1	426,9	2,37
1027	121,9	1	35,6	0,29
1049	58,4	1		0,02
1115	65,3	1		0,02
1117	96,5	1	33,7	0,35
1406	453,6	1	375,9	0,83
1612	195,9	1	242,9	1,24
1826	1546,5	1	1013,6	0,66
2124	304	1	224,1	0,74
2128	184,4	1	85,8	0,47
2228	3686	1	2034,7	0,55
2310	182,7	1	563,4	3,08
2510	5463,1	1	3728,8	0,68
3004	755,6	1	367,5	0,49
3016	485,7	1	367,9	0,76
3117	184,1	1	112,8	0,61
3203	103,8	1	67,5	0,65
3324	48,9	1	81,9	1,68
3422	188,4	1	77,8	0,41
4003	608,5	1	520,2	0,85
4012	54,2	1	25,3	0,47
4013	325	1	237,1	0,73
4114	61,7	1	80,8	1,31
4302	214	1	175,3	0,82
4307	99,5	1	127,5	1,28
4405	1502,2	1	699	0,47
4603	59,8	1	107,7	1,8
4712	272,9	1	340,4	1,25
4717	89,8	1	41,9	0,47
4725	81,7	1	147,3	1,8
4731	30,2	1	42,9	1,42
4732	90,7	1	54,3	0,6
4733	116,5	1	50,9	0,44
4829	38,2	1	211,2	5,53
4830		1	156	110
5029	52,4	1	20,1	0,38
5114		1	93,3	65,77
5311	38,3	1	92,1	2,4
5316		1	1002,3	706,67
5428	181,3	1	119,7	0,66
5537		1	28	19,76
5615	734	1	1683,2	2,29
5635		1	89,9	63,35
5703	36,5	1	49,5	1,36
5842		1	56,8	40,07
6430	79,6	1	119,2	1,5
6540		1	155,2	109,46
6607	68,3	1	49	0,72
6619		1	72,5	51,1
6821	99,1	1	185,4	1,87
6822	102,4	1	140,6	1,37
7119	54,3	1	32,1	0,59
7302	780,4	1	265,5	0,34
7338		1	17,9	12,62
7345	1592,4	1	316,8	0,2
7415	1738,6	1	1976,2	1,14
7441	31,1	1	56,6	1,82
7524	72,9	1	116,8	1,6
7620	67,4	1	167,5	2,48
7632	530,7	1	745,8	1,41
7636	25,6	1	85,9	3,36
8607	103,5	1	132	1,28
9005	56,8	1	13,7	0,24

3.2 Liste des protéines modulées à 48 h

SSP	Control	Ratio	Treated_48h	Ratio
1046		1	83,2	95,98
1125	14,8	1	71,1	4,81
1333	148,1	1	78,5	0,53
1424	1754,6	1	5239,1	2,99
2010	69,2	1	90,6	1,31
2024	18,7	1	61	3,26
2215	28,7	1	61,1	2,13
2309	107,5	1	271,1	2,52
2524	135,8	1	294,9	2,17
2749	115,9	1	22	0,19
2840	61,8	1	83,7	1,36
3021	161,5	1	246,7	1,53
3123	147,5	1	183,4	1,24
3218	51,1	1	67,4	1,32
3416	474,7	1	224	0,47
3421	55,6	1	127,9	2,3
3509	389,4	1	204	0,52
3735	45,6	1	32,7	0,72
3740	157,8	1		0,01
3832	420	1	134,8	0,32
4027	19,7	1	59	3
4314	96,3	1	218,9	2,27
4405	1357	1	212,1	0,16
5007	45,1	1	35,5	0,79
5306	241,9	1	567,8	2,35
5615	882,9	1	1817,6	2,06
6002	40,9	1	11,3	0,28
6141		1	14,4	16,55
6344		1	386,4	445,59
6425	241,5	1	540,8	2,24
7117	114,2	1	221,5	1,94
7124	250,2	1	351,6	1,41
7128	5,5	1	30,6	5,6
7530	519,9	1	944,9	1,82
7534	394,6	1	541,4	1,37
7615	53,8	1	150,7	2,8
7636	32,6	1	48,5	1,49
8305	467,9	1	856,4	1,83
8409	273,8	1	701,9	2,56
8429	257,1	1	174,1	0,68
8601	51,8	1	156,3	3,02
8604	1485,8	1	4108,1	2,76
8712	29,9	1	98,7	3,3
9102		1	44,5	51,32

4. Table d : Transcrits modulés 8 h, 24 h et 48 h après une administration unique de 150 mg/kg de FM

4.1 Liste des transcrits sur-accumulés à 8 h

Gene Name	Systematic Name	Description	Ratio 8h	Ratio 24h	Ratio 48h
AA819383	AA819383	AA819383 UI-R-A0-bk-g-11-0-UI.s1 UI-R-A0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A0-bk-g-11-0-UI 3' similar to gb [AA819383]	1,26	0,43	0,63
AA925323	AA925323	AA925323 UI-R-A1-ek-g-11-0-UI.s1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-ek-g-11-0-UI 3' similar to gi [AA925323]	1,36	0,92	1,06
AB097851	AB097851	Rattus norvegicus mRNA, Axomer-1, transported in axons. [AB097851]	1,21	1,00	0,59
AI009597	AI009597	AI009597 EST204048 Normalized rat lung, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RLUBG14 3' end, mRNA sequence [AI009597]	1,43	0,58	0,63
AI230771	AI230771	AI230771 EST227466 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone REMDB05 3' end, mRNA sequence [AI230771]	1,21	0,74	0,66
AW143472	AW143472	AW143472 EST293872 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBV42 5' end, mRNA sequence [AW143472]	1,51	1,04	1,07
AW143880	AW143880	AW143880 EST294176 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICC09 5' end, mRNA sequence [AW143880]	1,49	1,29	0,99
AW916017	AW916017	AW916017 EST347321 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIDE94 5' end, mRNA sequence [AW916017]	1,28	0,97	1,86
Bbs1_predicted	XM_219691	Rattus norvegicus similar to Bardet-Biedl syndrome 1 (LOC309156), mRNA [XM_219691]	1,24	0,76	0,63
Bcl11a_predicted	XM_223693	Rattus norvegicus similar to B-cell CLL/lymphoma 11A isoform 1; ecotropic viral integration site 9 homolog; C2H2-type zinc finger protein (LOC305589), mRNA [XM_223693]	1,39	0,89	0,77
Bcl6_predicted	XM_221333	PREDICTED: Rattus norvegicus B-cell leukemia/lymphoma 6 (predicted) (Bcl6_predicted), mRNA [XM_221333]	1,21	1,20	1,00
BE098727	BE098727	BE098727 UI-R-BJ1-atd-c-03-0-UI.s1 UI-R-BJ1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ1-atd-c-03-0-UI 3', mRNA sequence [BE098727]	1,27	0,63	1,33
BE118556	BE118556	UI-R-BJ1-azq-b-05-0-UI.s1 UI-R-BJ1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ1-azq-b-05-0-UI 3', mRNA sequence [BE118556]	1,38	1,01	1,14
BF397813	BF397813	BF397813 UI-R-BS2-bee-h-09-0-UI.s1 UI-R-BS2 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BS2-bee-h-09-0-UI 3', mRNA sequence [BF397813]	1,21	0,74	0,76
BF523160	BF523160	UI-R-C3-sl-f-06-0-UI.r1 UI-R-C3 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C3-sl-f-06-0-UI 5', mRNA sequence [BF523160]	1,46	0,84	1,07
BG668700	BG668700	BG668700 DRNBMD10 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRNBMD10 5', mRNA sequence [BG668700]	1,26	0,95	0,91
BI284261	BI284261	BI284261 UI-R-CX0s-ccq-a-10-0-UI.s1 UI-R-CX0s Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CX0s-ccq-a-10-0-UI 3', mRNA sequence [BI284261]	1,40	0,99	1,06
Biklk	NM_053704	Rattus norvegicus Bcl2-interacting killer-like (Biklk), mRNA [NM_053704]	1,29	0,84	0,87
BU759928	BU759928	UI-R-FS1-cqg-l-03-0-UI.s1 UI-R-FS1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-FS1-cqg-l-03-0-UI 3', mRNA sequence [BU759928]	1,23	1,09	1,01
C1qb	NM_019262	Rattus norvegicus complement component 1, q subcomponent, beta polypeptide (C1qb), mRNA [NM_019262]	1,39	1,18	0,99
CB546035	CB546035	CB546035 AMGNNUC:NRDG1-00089-A1-A nrdg1 (10855) Rattus norvegicus cDNA clone nrdg1-00089-a1 5', mRNA sequence [CB546035]	1,26	1,18	1,05
CB547615	CB547615	CB547615 AMGNNUC:NRHZ1-00016-F11-A nrhz1 (10741) Rattus norvegicus cDNA clone nrhz1-00016-f11 5', mRNA sequence [CB547615]	1,42	0,67	2,17
Cdc14a_predicted	XM_227618	PREDICTED: Rattus norvegicus CDC14 cell division cycle 14 homolog A (S. cerevisiae) (predicted) (Cdc14a_predicted), mRNA [XM_227618]	1,22	0,56	0,71
CK470297	CK470297	AGENCOURT_17640281 NIH_MGC_237 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7114525 5', mRNA sequence [CK470297]	2,41	1,51	2,04
Col5a2	XM_343564	Rattus norvegicus collagen, type V, alpha 2 (Col5a2), mRNA [XM_343564]	1,25	1,08	0,97
Ctgf	NM_022266	Rattus norvegicus connective tissue growth factor (Ctgf), mRNA [NM_022266]	1,61	1,38	1,18
Dsipi	NM_031345	Rattus norvegicus delta sleep inducing peptide, immunoreactor (Dsipi), mRNA [NM_031345]	1,26	0,83	0,73
ENSRNOT0000030199	ENSRNOT0000030199	Unknown	1,28	0,66	1,22
Galm	NM_001007704	Rattus norvegicus galactose mutarotase (aldose 1-epimerase) (Galm), mRNA [NM_001007704]	1,43	1,32	0,87
Hbxap_predicted	XM_218939	PREDICTED: Rattus norvegicus hepatitis B virus x associated protein (predicted) (Hbxap_predicted), mRNA [XM_218939]	1,30	1,08	1,45
Hgf	NM_017017	Rattus norvegicus hepatocyte growth factor (Hgf), mRNA [NM_017017]	1,28	0,64	0,79
Hp	NM_012582	Rattus norvegicus haptoglobin (Hp), mRNA [NM_012582]	1,25	0,30	0,59
Hsd3b1_predicted	NM_001007719	Rattus norvegicus hydroxysteroid dehydrogenase-1, delta<5>-3-beta (predicted) (Hsd3b1_predicted), mRNA [NM_001007719]	1,26	1,21	1,26
Il18	NM_019165	Rattus norvegicus interleukin 18 (Il18), mRNA [NM_019165]	1,25	1,09	0,84
Lat	NM_030853	Rattus norvegicus linker for activation of T cells (Lat), mRNA [NM_030853]	1,27	1,09	0,97
LOC290300	XM_214214	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to tumor necrosis factor receptor superfamily, member 19 (LOC290300), mRNA [XM_214214]	1,26	0,57	0,84
LOC303555	XM_220927	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to c114 SLIT-like testicular protein (LOC303555), mRNA [XM_220927]	1,23	1,04	0,98
LOC314979	XM_235306	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ12428 (LOC314979), mRNA [XM_235306]	1,39	1,19	0,59
LOC316318	XM_237047	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to TESP2 (LOC316318), mRNA [XM_237047]	1,58	1,36	0,70
LOC366145	XM_345411	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L6 (LOC366145), mRNA [XM_345411]	1,67	0,82	0,99
Mgl1	NM_022393	Rattus norvegicus macrophage galactose N-acetyl-galactosamine specific lectin 1 (Mgl1), mRNA [NM_022393]	1,39	0,93	0,77
NM_001013879	NM_001013879	Rattus norvegicus similar to 1700030K09Rik protein (predicted) (RGD1311847_predicted), mRNA [NM_001013879]	1,26	0,89	1,14
NM_001014071	NM_001014071	Rattus norvegicus similar to Mitogen-inducible gene 6 protein homolog (Mig-6) (Gene 33 polypeptide) (predicted) (RGD1307599_predicted), mRNA [NM_001014071]	1,30	0,80	0,79

NM_001014125	NM_001014125	Rattus norvegicus protein disulfide isomerase-associated 5 (Pdia5), mRNA [NM_001014125]	1,41	1,01	0,97
NM_001017493	NM_001017493	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ10706 (LOC498265), mRNA [NM_001017493]	1,20	0,97	0,99
NM_001025111	NM_001025111	Rattus norvegicus similar to DC-derived Ig-like receptor 2 (predicted) (RGD1309733_predicted), mRNA [NM_001025111]	1,27	0,49	0,65
Ptp4a1	NM_031579	Rattus norvegicus protein tyrosine phosphatase 4a1 (Ptp4a1), mRNA [NM_031579]	1,30	0,94	0,96
RGD:1303034	NM_201991	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA A930018B01 (LOC360810), mRNA [NM_201991]	1,24	1,03	1,08
RGD:619921	NM_057132	Rattus norvegicus ras homolog gene family, member A (Rhoa), mRNA [NM_057132]	1,34	0,88	1,06
Rgnef_predicted	XM_342179	PREDICTED: Rattus norvegicus Rho-guanine nucleotide exchange factor (predicted) (Rgnef_predicted), mRNA [XM_342179]	1,26	0,99	1,00
RT1-CE16	NM_001008839	Rattus norvegicus RT1 class I, CE16 (RT1-CE16), mRNA [NM_001008839]	1,23	0,75	0,96
Scarf2_predicted	XM_237825	PREDICTED: Rattus norvegicus scavenger receptor class F, member 2 (predicted) (Scarf2_predicted), mRNA [XM_237825]	1,23	0,61	0,50
Sgol2_predicted	XM_237176	PREDICTED: Rattus norvegicus shugoshin-like 2 (S. pombe) (predicted) (Sgol2_predicted), mRNA [XM_237176]	1,28	0,69	1,66
Slc28a2	NM_031664	Rattus norvegicus solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 2 (Slc28a2), mRNA [NM_031664]	1,13	1,10	1,06
Slc28a2	NM_031664	Rattus norvegicus solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 2 (Slc28a2), mRNA [NM_031664]	1,14	1,10	1,06
Slc28a2	NM_031664	Rattus norvegicus solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 2 (Slc28a2), mRNA [NM_031664]	1,19	1,10	1,06
Slc28a2	NM_031664	Rattus norvegicus solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 2 (Slc28a2), mRNA [NM_031664]	1,26	1,10	1,06
Slc28a2	NM_031664	Rattus norvegicus solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 2 (Slc28a2), mRNA [NM_031664]	1,28	1,10	1,06
Slc28a2	NM_031664	Rattus norvegicus solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 2 (Slc28a2), mRNA [NM_031664]	1,33	1,10	1,06
Slc28a2	NM_031664	Rattus norvegicus solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 2 (Slc28a2), mRNA [NM_031664]	1,34	1,10	1,06
Slc28a2	NM_031664	Rattus norvegicus solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 2 (Slc28a2), mRNA [NM_031664]	1,38	1,10	1,06
Slc28a2	NM_031664	Rattus norvegicus solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 2 (Slc28a2), mRNA [NM_031664]	1,47	1,10	1,06
Slc28a2	NM_031664	Rattus norvegicus solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 2 (Slc28a2), mRNA [NM_031664]	1,49	1,10	1,06
Spdef_predicted	XM_215359	Rattus norvegicus similar to Prostate specific transcription factor ets (LOC294293), mRNA [XM_215359]	1,32	0,95	1,65
Ssh3_predicted	NM_001012217	Rattus norvegicus slingshot homolog 3 (Drosophila) (predicted) (Ssh3_predicted), mRNA [NM_001012217]	1,22	1,12	1,07
Stat6_predicted	XM_343223	PREDICTED: Rattus norvegicus signal transducer and activator of transcription 6 (predicted) (Stat6_predicted), mRNA [XM_343223]	1,26	0,88	0,83
TC518079	TC518079	Q8HM87 (Q8HM87) ATPase subunit 6, partial (6%) [TC518079]	1,33	0,95	1,13
TC525305	TC525305	Unknown	1,26	1,12	1,21
TC525552	TC525552	Unknown	1,21	1,56	1,09
TC538971	TC538971	O22514 (O22514) Proline rich protein, partial (9%) [TC538971]	1,22	0,81	1,34
TC542359	TC542359	Q8N317 (Q8N317) C10orf47 protein, partial (13%) [TC542359]	1,22	0,86	0,91
TC543900	TC543900	Unknown	1,60	1,17	0,96
TC545284	TC545284	Unknown	1,22	0,94	1,03
TC545741	TC545741	Unknown	1,43	0,98	0,99
TC548352	TC548352	Unknown	1,30	1,15	1,31
TC550463	TC550463	Q8SQS0 (Q8SQS0) FARNESYL PYROPHOSPHATE SYNTHETASE, partial (5%) [TC550463]	1,34	1,10	0,64
TC558907	TC558907	Unknown	1,23	1,19	1,01
Tkt	NM_022592	Rattus norvegicus transketolase (Tkt), mRNA [NM_022592]	1,23	1,02	0,97
U40628	U40628	Rattus norvegicus clone BB.1.4.1 unknown Glu-Pro dipeptide repeat protein mRNA, complete cds. [U40628]	2,41	0,70	1,66
XM_342259	XM_342259	Rattus norvegicus similar to schwannomin interacting protein 1 (LOC361958), mRNA [XM_342259]	1,27	0,99	0,65
XM_344734	XM_344734	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700081O22 (LOC364963), mRNA [XM_344734]	1,22	1,07	1,14
XM_573188	XM_573188	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to peroxisome proliferator-activated receptor binding protein (LOC497991), mRNA [XM_573188]	1,21	1,17	1,20
XM_573509	XM_573509	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to intelectin (LOC498284), mRNA [XM_573509]	1,48	1,06	0,77
XM_573767	XM_573767	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to T-cell receptor alpha chain V region (LOC498503), mRNA [XM_573767]	1,23	1,10	1,00
XM_574760	XM_574760	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to minichromosome maintenance protein 8 isoform 1 (LOC499437), mRNA [XM_574760]	1,23	1,00	1,05
XM_576514	XM_576514	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to serum response factor (LOC501099), mRNA [XM_576514]	1,25	1,08	0,97
XM_576713	XM_576713	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC501300 (LOC501300), mRNA [XM_576713]	1,20	1,05	0,95
XM_576783	XM_576783	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical gene supported by BC082068 (LOC501370), mRNA [XM_576783]	1,24	1,15	0,96
XM_579834	XM_579834	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC498535 (LOC498535), mRNA [XM_579834]	1,23	0,92	0,80

4.2 Liste des transcrits sous-accumulés à 8 h

Gene Name	Systematic Name	Description	Ratio 8h	Ratio 24h	Ratio 48h
A_44_P403350	A_44_P403350	Unknown	0,78	1,42	1,33
A_44_P445806	A_44_P445806	Unknown	0,79	1,58	0,80
A_44_P508534	A_44_P508534	Unknown	0,83	0,83	0,90
A_44_P591170	A_44_P591170	Unknown	0,83	1,15	0,76
A_44_P692795	A_44_P692795	Unknown	0,82	0,79	1,03
A_44_P913407	A_44_P913407	Unknown	0,79	0,91	0,87
AA955915	AA955915	AA955915 UI-R-E1-fd-c-08-0-UI.s1 UI-R-E1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E1-fd-c-08-0-UI 3', mRNA sequence [AA955915]	0,65	0,59	0,51
AABR03055426	AABR03055426	Rattus norvegicus chromosome 7, 17 clones, strain BN/SsNHsdMCW RNOR03310738, whole genome shotgun sequence [AABR03055426]	0,77	0,96	1,12
AB014883	AB014883	Rattus norvegicus non-coding RNA expressed in the brain, repeat sequence [AB014883]	0,72	1,22	0,93
AI008689	AI008689	AI008689 EST203140 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone REMBB67 3' end, mRNA sequence [AI008689]	0,77	1,03	1,20
AI010277	AI010277	AI010277 EST204728 Normalized rat lung, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RLUBW34 3' end, mRNA sequence [AI010277]	0,82	1,00	1,00
AI012802	AI012802	AI012802 EST207253 Normalized rat placenta, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RPLBB79 3' end, mRNA sequence [AI012802]	0,83	1,06	1,03
AI045508	AI045508	AI045508 UI-R-C1-kj-g-08-0-UI.s1 UI-R-C1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C1-kj-g-08-0-UI 3', mRNA sequence [AI045508]	0,82	0,81	1,55
AI180339	AI180339	AI180339 EST224083 Normalized rat spleen, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RSPCV03 3' end, mRNA sequence [AI180339]	0,79	1,12	0,90
AI228422	AI228422	AI228422 EST225117 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RBRCU57 3' end, mRNA sequence [AI228422]	0,78	1,12	1,04
AI547909	AI547909	AI547909 UI-R-C3-so-e-11-0-UI.s1 UI-R-C3 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C3-so-e-11-0-UI 3', mRNA sequence [AI547909]	0,73	0,96	0,78
AJ003232	AJ003232	RNAJ3232 Rattus norvegicus mRNA for MHC class II RT1-D beta1 chain haplotype k [AJ003232]	0,64	0,96	0,62
AW142820	AW142820	AW142820 EST293074 Normalized rat brain, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIW35 5' end, mRNA sequence [AW142820]	0,80	1,07	1,06
AW915161	AW915161	AW915161 EST346465 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICL49 5' end, mRNA sequence [AW915161]	0,64	1,25	1,37
AW919937	AW919937	AW919937 EST351241 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIGO75 5' end, mRNA sequence [AW919937]	0,79	1,07	0,76
B3gnt5	XM_344040	PREDICTED: Rattus norvegicus UDP-GlcNAc:betaGal beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 5 (B3gnt5), mRNA [XM_344040]	0,75	0,99	0,99
BF289769	BF289769	BF289769 EST454360 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIHK82, mRNA sequence [BF289769]	0,83	0,98	1,09
BF555924	BF555924	BF555924 UI-R-A1-dw-d-12-0-UI.r1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-dw-d-12-0-UI 5', mRNA sequence [BF555924]	0,80	1,26	1,08
BI282031	BI282031	BI282031 UI-R-CU0s-cbv-f-05-0-UI.s1 UI-R-CU0s Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CU0s-cbv-f-05-0-UI 3', mRNA sequence [BI282031]	0,82	0,99	0,76
BI395793	BI395793	BI395793 EST531664 Rat gene index, normalized rat, norvegicus Rattus norvegicus cDNA clone RGICP08 5' end, mRNA sequence [BI395793]	0,53	1,09	0,15
BQ200260	BQ200260	BQ200260 UI-R-DO1-cmk-f-01-0-UI.s1 UI-R-DO1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-DO1-cmk-f-01-0-UI 3', mRNA sequence [BQ200260]	0,36	0,87	4,44
BQ209232	BQ209232	BQ209232 UI-R-DY1-cnt-c-16-0-UI.s1 NCI_CGAP_DY1 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7334442 3', mRNA sequence [BQ209232]	0,82	1,18	0,78
Cacna1s	L04684	Rat dihydropyridine-sensitive L-type calcium channel alpha-1 subunit (CCHL1A3) mRNA, 3' end [L04684]	0,79	1,02	0,99
CB545011	CB545011	CB545011 AMGNNUC:NRHY5-00136-B1-A W Rat hypothalamus (10471) Rattus norvegicus cDNA clone nrhy5-00136-b1 5', mRNA sequence [CB545011]	0,81	0,92	1,02
Commd9_predicted	XM_215781	PREDICTED: Rattus norvegicus COMM domain containing 9 (predicted) (Commd9_predicted), mRNA [XM_215781]	0,77	0,88	0,87
Dbccr1	NM_080482	Rattus norvegicus deleted in bladder cancer chromosome region candidate 1 (human) (Dbccr1), mRNA [NM_080482]	0,67	1,09	0,65
Dcir3	XM_342752	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 3110037K17 (LOC362431), mRNA [XM_342752]	0,80	0,88	0,82
Dufd1_predicted	XM_218781	PREDICTED: Rattus norvegicus DUF729 domain containing 1 (predicted) (Dufd1_predicted), mRNA [XM_218781]	0,66	0,98	1,15
ENSRNOT00000031061	ENSRNOT00000031061	Unknown	0,82	1,42	0,86
Ethe1_predicted	XM_214838	PREDICTED: Rattus norvegicus ethylmalonic encephalopathy 1 (predicted) (Ethe1_predicted), mRNA [XM_214838]	0,81	0,99	0,85
Gadd45g_predicted	XM_237999	PREDICTED: Rattus norvegicus growth arrest and DNA-damage-inducible 45 gamma (predicted) (Gadd45g_predicted), mRNA [XM_237999]	0,55	0,61	0,70
H6pd_predicted	XM_233688	PREDICTED: Rattus norvegicus hexose-6-phosphate dehydrogenase (glucose 1-dehydrogenase) (predicted) (H6pd_predicted), mRNA [XM_233688]	0,57	1,84	0,79
Hmgb1	NM_012963	Rattus norvegicus high mobility group box 1 (Hmgb1), mRNA [NM_012963]	0,73	1,35	0,54
Hpgd	NM_024390	Rattus norvegicus 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (Hpgd), mRNA [NM_024390]	0,75	1,17	0,63
Iag2	NM_053946	Rattus norvegicus implantation-associated protein (Iag2), mRNA [NM_053946]	0,83	1,12	1,12
LOC296402	XM_215954	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Docking protein 5 (Downstream of tyrosine kinase 5) (Protein dok-5) (LOC296402), mRNA [XM_215954]	0,59	1,06	0,99
LOC297260	XM_231999	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Ig variable region, light chain (LOC297260), mRNA [XM_231999]	0,82	0,84	1,23
LOC297402	XM_216190	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Sepiapterin reductase (SPR) (LOC297402), mRNA [XM_216190]	0,70	0,87	0,84

LOC298998	XM_238451	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC298998 (LOC298998), mRNA [XM_238451]	0,48	1,42	0,52
LOC301295	XM_217363	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to EF-hand domain (C-terminal) containing 1 (LOC301295), mRNA [XM_217363]	0,62	1,19	1,10
LOC309256	XM_219706	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to mKIAA1018 protein (LOC309256), mRNA [XM_219706]	0,78	0,86	0,92
LOC310416	XM_227139	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 8030451K01 (LOC310416), mRNA [XM_227139]	0,78	1,23	0,91
LOC361113	XM_346937	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC361113 (LOC361113), mRNA [XM_346937]	0,73	1,41	0,81
LOC361593	XM_346989	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC361593 (LOC361593), mRNA [XM_346989]	0,69	0,80	0,80
LOC365704	XM_345171	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein (80.3 kD) (5T676) (LOC365704), mRNA [XM_345171]	0,75	1,50	0,83
Melk_predicted	XM_342828	Rattus norvegicus similar to protein kinase PK38 (LOC362510), mRNA [XM_342828]	0,82	1,06	1,02
Mrrf_predicted	NM_001008354	Rattus norvegicus mitochondrial ribosome recycling factor (predicted) (Mrrf_predicted), mRNA [NM_001008354]	0,73	0,99	0,86
NM_001024762	NM_001024762	Rattus norvegicus DNA primase, p58 subunit (Prim2), mRNA [NM_001024762]	0,75	0,87	1,02
NM_001024871	NM_001024871	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 9530020D24 (predicted) (RGD1310612_predicted), mRNA [NM_001024871]	0,77	0,93	0,97
NM_001025723	NM_001025723	Rattus norvegicus similar to mitochondrial translational release factor 1-like (LOC361473), mRNA [NM_001025723]	0,71	1,30	0,90
Nxph1	NM_012994	Rattus norvegicus neurexophilin 1 (Nxph1), mRNA [NM_012994]	0,63	1,40	1,07
Olr466_predicted	NM_001000298	Rattus norvegicus olfactory receptor 466 (predicted) (Olr466_predicted), mRNA [NM_001000298]	0,81	1,06	0,89
P2rx7	NM_019256	Rattus norvegicus purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 7 (P2rx7), mRNA [NM_019256]	0,76	0,73	1,54
P2ry6	NM_057124	Rattus norvegicus pyrimidineric receptor P2Y, G-protein coupled, 6 (P2ry6), mRNA [NM_057124]	0,78	0,87	1,02
Phf3_predicted	XM_343548	PREDICTED: Rattus norvegicus PHD finger protein 3 (predicted) (Phf3_predicted), mRNA [XM_343548]	0,83	1,11	0,84
Ptpns1	NM_013016	Rattus norvegicus protein tyrosine phosphatase, non-receptor type substrate 1 (Ptpns1), mRNA [NM_013016]	0,72	0,95	0,85
Rab14	NM_053589	Rattus norvegicus RAB14, member RAS oncogene family (Rab14), mRNA [NM_053589]	0,81	1,14	1,10
Rasd2	NM_133568	Rattus norvegicus RASD family, member 2 (Rasd2), mRNA [NM_133568]	0,79	0,53	0,70
RGD:1303092	NM_001002821	Rattus norvegicus histocompatibility 2, T region locus 18 (H2-T18), mRNA [NM_001002821]	0,63	0,83	0,28
RGD:727834	NM_173325	Rattus norvegicus putative retrovirus-related gag protein (LOC286991), mRNA [NM_173325]	0,79	1,04	1,18
RGD:735147	NM_198772	Rattus norvegicus Unknown (protein for MGC:72974) (MGC72974), mRNA [NM_198772]	0,44	0,76	1,58
RGD1307241_predicted	XM_235072	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA C630016B22 gene (predicted) (LOC314751), mRNA [XM_235072]	0,71	0,87	0,98
RGD1307696_predicted	XM_230827	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to dJ881L22.2 (novel protein) (predicted) (LOC311617), mRNA [XM_230827]	0,82	0,96	1,07
RGD1309108_predicted	XM_236102	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ23554 (predicted) (LOC315578), mRNA [XM_236102]	0,75	0,96	0,98
RGD1309181_predicted	XM_227587	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1810073M12 (predicted) (LOC310785), mRNA [XM_227587]	0,74	1,18	1,06
RT1-Bb	NM_001004084	Rattus norvegicus RT1 class II, locus Bb (RT1-Bb), mRNA [NM_001004084]	0,67	0,92	0,44
RT1-CE10	NM_001008833	Rattus norvegicus RT1-CE10 protein (RT1-CE10), mRNA [NM_001008833]	0,52	0,72	0,26
Taf10_predicted	BG377894	UI-R-CU0-bvg-d-12-0-UI.s1 UI-R-CU0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CU0-bvg-d-12-0-UI 3', mRNA sequence [BG377894]	0,73	1,03	1,00
TC519315	TC519315	SP20_MOUSE (Q8R1X6) Spartin, partial (75%) [TC519315]	0,77	1,01	1,12
TC520009	TC520009	MMU400844 cell surface receptor FDF03 {Mus musculus;} , partial (11%) [TC520009]	0,78	1,01	0,83
TC521066	TC521066	Q49846 (Q49846) B2235_C3_243 (Possible conserved membrane protein), partial (7%) [TC521066]	0,82	0,81	1,43
TC521613	TC521613	Unknown	0,72	0,98	0,84
TC523154	TC523154	Q91842 (Q91842) Xenopus laevis U2 snRNA gene, partial (6%) [TC523154]	0,80	0,78	0,77
TC532529	TC532529	Unknown	0,81	1,25	1,32
TC567098	TC567098	Q8YRD7 (Q8YRD7) Two-component sensor histidine kinase, partial (3%) [TC567098]	0,66	1,36	2,20
Tm4sf1_predicted	XM_215576	PREDICTED: Rattus norvegicus transmembrane 4 superfamily member 1 (predicted) (Tm4sf1_predicted), mRNA [XM_215576]	0,79	1,13	0,91
Trim16_predicted	XM_220552	PREDICTED: Rattus norvegicus tripartite motif protein 16 (predicted) (Trim16_predicted), mRNA [XM_220552]	0,77	1,09	1,03
XM_215067	XM_215067	Rattus norvegicus similar to apolipoprotein B48 receptor (LOC293486), mRNA [XM_215067]	0,77	0,66	1,14
XM_225088	XM_225088	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to S100 calcium binding protein A11 (calizzarin) (LOC502110), mRNA [XM_225088]	0,80	0,94	1,12
XM_341439	XM_341439	Rattus norvegicus similar to cDNA sequence BC035537 (LOC361154), mRNA [XM_341439]	0,74	1,07	1,00
XM_573770	XM_573770	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to T-cell receptor alpha chain V region (LOC498509), mRNA [XM_573770]	0,82	1,03	1,05
Xpnpep1	NM_131913	Rattus norvegicus X-prolyl aminopeptidase (aminopeptidase P) 1, soluble (Xpnpep1), mRNA [NM_131913]	0,82	0,91	1,00

4.3 Liste des transcrits sur-accumulés à 24 h

Gene Name	Systematic Name	Description	Ratio 8h	Ratio 24h	Ratio 48h
A_44_P445806	A_44_P445806	Unknown	0,79	1,58	0,80
A_44_P511275	A_44_P511275	Unknown	1,26	1,23	0,91
A_44_P625012	A_44_P625012	Unknown	1,13	1,36	0,89
AABR03006190	AABR03006190	Rattus norvegicus chromosome 1, 7 clones, strain BN/SsNHsdMCW RNOR03210214, whole genome shotgun sequence [AABR03006190]	1,29	1,33	1,17
Adk	NM_012895	Rattus norvegicus adenosine kinase (Adk), mRNA [NM_012895]	1,01	1,23	0,87
Alf502605	Alf502605	Alf502605 UI-R-C1-kw-h-06-0-UI.s1 UI-R-C1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C1-kw-h-06-0-UI 3', mRNA sequence [Alf502605]	1,08	1,39	0,84
Aldh1a4	NM_017272	Rattus norvegicus aldehyde dehydrogenase family 1, subfamily A4 (Aldh1a4), mRNA [NM_017272]	0,94	1,61	1,36
Aspa	NM_024399	Rattus norvegicus aspartoacylase (Aspa), mRNA [NM_024399]	1,01	1,28	0,92
AW526490	AW526490	UI-R-BO1-ajc-b-05-0-UI.s1 UI-R-BO1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BO1-ajc-b-05-0-UI 3', mRNA sequence [AW526490]	1,11	1,26	0,83
AW918168	AW918168	AW918168 EST349472 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEN33 5' end, mRNA sequence [AW918168]	1,13	1,77	0,78
AY325199	AY325199	Rattus norvegicus Ab2-255 mRNA, complete cds. [AY325199]	1,06	1,24	1,17
BF523017	BF523017	BF523017 UI-R-C2p-rg-e-10-0-UI.r1 UI-R-C2p Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C2p-rg-e-10-0-UI 5', mRNA sequence [BF523017]	0,78	1,29	1,15
BF523185	BF523185	UI-R-C3-sr-e-01-0-UI.r1 UI-R-C3 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C3-sr-e-01-0-UI 5', mRNA sequence [BF523185]	0,81	1,32	1,08
BF547014	BF547014	BF547014 UI-R-C1-kj-h-06-0-UI.r1 UI-R-C1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C1-kj-h-06-0-UI 5', mRNA sequence [BF547014]	1,01	1,64	1,17
BF561497	BF561497	BF561497 UI-R-C0-ia-c-04-0-UI.r1 UI-R-C0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C0-ia-c-04-0-UI 5', mRNA sequence [BF561497]	0,89	1,21	1,20
BG665267	BG665267	BG665267 DRACAF08 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRACAF08 5', mRNA sequence [BG665267]	0,81	1,67	1,15
Bhmt	NM_030850	Rattus norvegicus betaine-homocysteine methyltransferase (Bhmt), mRNA [NM_030850]	1,19	1,34	1,40
BQ206691	BQ206691	BQ206691 UI-R-DZ1-cn-j-o-06-0-UI.s1 NCI_CGAP_DZ1 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7346624 3', mRNA sequence [BQ206691]	1,10	1,31	1,21
CA507012	CA507012	CA507012 UI-R-FS1-cqd-e-23-0-UI.s1 NCI_CGAP_FS1 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7361377 3', mRNA sequence [CA507012]	1,11	1,28	0,86
Casp9	NM_031632	Rattus norvegicus caspase 9 (Casp9), mRNA [NM_031632]	0,69	1,33	0,86
CK595178	CK595178	AGENCOURT_17892956 NIH_MGC_237 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7112174 5', mRNA sequence [CK595178]	0,87	1,50	1,15
CK596364	CK596364	AGENCOURT_17837420 NIH_MGC_238 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7131533 5', mRNA sequence [CK596364]	1,05	1,75	1,20
Comt	NM_012531	Rattus norvegicus catechol-O-methyltransferase (Comt), mRNA [NM_012531]	1,02	1,58	1,71
Creb3l4	XM_227391	Rattus norvegicus similar to androgen-induced basic leucine zipper; (attaching to CRE-like 1 (LOC310616), mRNA [XM_227391]	1,14	1,45	1,15
Creg_predicted	XM_213921	PREDICTED: Rattus norvegicus cellular repressor of E1A-stimulated genes (predicted) (Creg_predicted), mRNA [XM_213921]	0,96	1,26	0,93
Crym	NM_053955	Rattus norvegicus crystallin, mu (Crym), mRNA [NM_053955]	0,94	1,48	1,24
Ctgf	NM_022266	Rattus norvegicus connective tissue growth factor (Ctgf), mRNA [NM_022266]	1,61	1,38	1,18
Dapp1_predicted	XM_342348	PREDICTED: Rattus norvegicus dual adaptor for phosphotyrosine and 3-phosphoinositides 1 (predicted) (Dapp1_predicted), mRNA [XM_342348]	0,74	1,21	1,19
ENSRNOT00000019738	ENSRNOT00000019738	AW143854 EST294150 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICB58 5' end, mRNA sequence [AW143854]	0,97	1,45	1,09
ENSRNOT00000031061	ENSRNOT00000031061	Unknown	0,82	1,42	0,86
ENSRNOT00000045593	ENSRNOT00000045593	Unknown	0,90	1,27	1,27
Es2	NM_017004	Rattus norvegicus esterase 2 (Es2), mRNA [NM_017004]	0,51	1,31	0,49
Fbp2	NM_053716	Rattus norvegicus fructose-1,6-bisphosphatase 2 (Fbp2), mRNA [NM_053716]	0,97	1,34	0,81
Galm	NM_001007704	Rattus norvegicus galactose mutarotase (aldose 1-epimerase) (Galm), mRNA [NM_001007704]	1,43	1,32	0,87
Gchfr	NM_133595	Rattus norvegicus GTP cyclohydrolase I feedback regulator (Gchfr), mRNA [NM_133595]	0,68	1,34	0,81
Grca_predicted	XM_342757	PREDICTED: Rattus norvegicus gene rich cluster, A gene (predicted) (Grca_predicted), mRNA [XM_342757]	0,77	1,36	0,85
Grp58	NM_017319	Rattus norvegicus glucose regulated protein, 58 kDa (Grp58), mRNA [NM_017319]	0,77	1,36	1,00
Hal	NM_017159	Rattus norvegicus histidine ammonia lyase (Hal), mRNA [NM_017159]	1,13	1,25	1,13
Hmgb1	NM_012963	Rattus norvegicus high mobility group box 1 (Hmgb1), mRNA [NM_012963]	0,73	1,35	0,54
Igsf10	NM_198768	Rattus norvegicus bone specific CMF608 (Igsf10), mRNA [NM_198768]	0,81	1,22	0,89
Il17re	NM_001004091	Rattus norvegicus similar to interleukin 17 receptor E isoform 1 (Il17re), mRNA [NM_001004091]	1,01	1,63	1,82
Inpp5d	NM_019311	Rattus norvegicus inositol polyphosphate-5-phosphatase D (Inpp5d), mRNA [NM_019311]	1,67	1,29	1,37
Itpr2	NM_031046	Rattus norvegicus inositol 1,4,5-triphosphate receptor 2 (Itpr2), mRNA [NM_031046]	0,95	1,40	0,74
Kb40	XM_235687	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to keratin Kb40 (LOC315324), mRNA [XM_235687]	1,18	1,27	1,31
Kntc2_predicted	XM_217489	Rattus norvegicus similar to HEC protein (LOC301701), mRNA [XM_217489]	0,98	1,33	1,44

Lctl_predicted	XM_236334	PREDICTED: Rattus norvegicus lactase-like (predicted) (Lctl_predicted), mRNA [XM_236334]	0,94	1,29	0,99
LOC301858	XM_229338	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to LRRG00131 (LOC301858), mRNA [XM_229338]	0,83	1,60	0,98
LOC302711	XM_217623	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to transducin (beta)-like 1 X-linked (LOC302711), mRNA [XM_217623]	0,86	2,32	1,17
LOC304252	XM_221875	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4930434E21 (LOC304252), mRNA [XM_221875]	1,14	1,29	0,90
LOC310390	XM_227116	Rattus norvegicus similar to T-cell activation Rho GTPase-activating protein isoform b (LOC310390), mRNA [XM_227116]	0,91	1,23	1,18
LOC310416	XM_227139	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 8030451K01 (LOC310416), mRNA [XM_227139]	0,78	1,23	0,91
LOC316318	XM_237047	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to TESP2 (LOC316318), mRNA [XM_237047]	1,58	1,36	0,70
LOC360657	XM_346905	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC360657 (LOC360657), mRNA [XM_346905]	1,30	1,23	1,22
LOC363432	XM_343754	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Afadin (AF-6 protein) (LOC363432), mRNA [XM_343754]	1,45	1,25	0,84
Mapk10	NM_012806	Rattus norvegicus mitogen activated protein kinase 10 (Mapk10), mRNA [NM_012806]	0,83	1,32	1,15
Mefv	NM_031634	Rattus norvegicus Mediterranean fever (Mefv), mRNA [NM_031634]	0,93	1,30	1,07
Myh6	NM_017239	Rattus norvegicus myosin heavy chain, polypeptide 6 (Myh6), mRNA [NM_017239]	1,00	1,77	0,70
Myh7	NM_017240	Rattus norvegicus myosin, heavy polypeptide 7, cardiac muscle, beta (Myh7), mRNA [NM_017240]	0,98	1,23	0,74
NM_001014271	NM_001014271	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700081O22 (LOC367515), mRNA [NM_001014271]	0,94	1,23	1,11
NM_001014274	NM_001014274	Rattus norvegicus similar to armadillo repeat protein ALEX2 (LOC367903), mRNA [NM_001014274]	1,05	1,30	1,15
Pdyn	NM_019374	Rattus norvegicus prodynorphin (Pdyn), mRNA [NM_019374]	1,19	1,38	2,05
Pla2g12a_predicted	XM_342340	PREDICTED: Rattus norvegicus phospholipase A2, group X1IA (predicted) (Pla2g12a_predicted), mRNA [XM_342340]	1,19	1,55	1,01
Prss23	NM_001007691	Rattus norvegicus protease, serine, 23 (Prss23), mRNA [NM_001007691]	1,23	1,50	0,81
Psd2_predicted	XM_226019	PREDICTED: Rattus norvegicus pleckstrin and Sec7 domain containing 2 (predicted) (Psd2_predicted), mRNA [XM_226019]	0,89	1,29	0,88
RGD:3632	NM_012647	Rattus norvegicus sodium channel, voltage-gated, type 2, alpha 1 polypeptide (Scn2a1), mRNA [NM_012647]	1,11	1,25	0,97
RGD:621380	NM_001008768	Rattus norvegicus DNA primase, p49 subunit (Prim1), mRNA [NM_001008768]	1,18	1,49	1,02
RGD:621380	NM_001008768	Rattus norvegicus DNA primase, p49 subunit (Prim1), mRNA [NM_001008768]	1,18	1,59	1,10
RGD:708447	NM_173132	Rattus norvegicus testin (LOC286916), mRNA [NM_173132]	1,13	1,85	2,18
RGD:727895	NM_194354	Rattus norvegicus promethin (LOC378467), mRNA [NM_194354]	0,75	1,25	1,01
RGD1305063_predicted	XM_220737	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Rab11-FIP4-like (predicted) (LOC303337), mRNA [XM_220737]	0,66	1,51	0,67
RGD1306090_predicted	XM_221533	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ10856 (predicted) (LOC288175), mRNA [XM_221533]	1,06	1,44	0,99
RGD1310494_predicted	XM_213637	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Nit protein 2 (predicted) (LOC288174), mRNA [XM_213637]	1,01	1,36	1,08
Slc13a3	NM_022866	Rattus norvegicus solute carrier family 13 (sodium-dependent dicarboxylate transporter), member 3 (Slc13a3), mRNA [NM_022866]	1,01	1,71	0,99
Snrpn	NM_031117	Rattus norvegicus small nuclear ribonucleoprotein N (Snrpn), mRNA [NM_031117]	1,12	1,36	0,80
Spetex-2B	NM_001011697	Rattus norvegicus Spetex-2B protein (Spetex-2B), mRNA [NM_001011697]	0,92	1,47	0,90
TC520838	TC520838	Q7PK22 (Q7PK22) ENSANGP00000023035 (Fragment), partial (7%) [TC520838]	0,99	1,28	0,95
TC523866	TC523866	Q9JMF2 (Q9JMF2) Mus musculus (Fragment), partial (13%) [TC523866]	0,87	2,26	1,23
TC525449	TC525449	Unknown	0,76	1,22	1,19
TC525552	TC525552	Unknown	1,21	1,56	1,09
TC533179	TC533179	Q8CFT4 (Q8CFT4) V2r2 protein, partial (40%) [TC533179]	0,98	1,51	1,14
TC534772	TC534772	Unknown	0,94	1,26	0,76
TC541371	TC541371	Unknown	0,94	1,26	0,67
TC543197	TC543197	Q9JJI7 (Q9JJI7) Membrane bound serine protease (Membrane bound arginine specific serine protease), partial (9%) [TC543197]	1,09	1,22	1,26
TC543764	TC543764	Unknown	1,07	1,21	1,02
TC545216	TC545216	Unknown	1,28	1,39	1,25
TC545237	TC545237	Unknown	1,02	1,26	0,95
TC545684	TC545684	Unknown	1,14	1,29	1,00
TC558884	TC558884	Unknown	0,84	1,45	1,20
TC565908	TC565908	O23471 (O23471) Glycine-rich protein homolog, partial (26%) [TC565908]	0,90	1,45	1,00
XM_213775	XM_213775	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein C630028F04 (LOC288644), mRNA [XM_213775]	1,31	1,83	0,97
XM_221124	XM_221124	PREDICTED: Rattus norvegicus tripartite motif protein 47 (predicted) (Trim47_predicted), mRNA [XM_221124]	1,10	1,21	1,38
XM_344290	XM_344290	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Spetex-2C (LOC498441), mRNA [XM_344290]	1,38	1,41	0,93
XM_573721	XM_573721	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700001F09 (LOC498464), mRNA [XM_573721]	1,37	1,23	0,91
XM_573724	XM_573724	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700001F09 (LOC498467), mRNA [XM_573724]	0,82	1,24	0,94
XM_573727	XM_573727	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700001F09 (LOC498470), mRNA [XM_573727]	0,92	1,23	0,90
XM_573736	XM_573736	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700001F09 (LOC498478), mRNA [XM_573736]	1,02	1,25	1,01
XM_576735	XM_576735	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to spermatogenesis associated glutamate (E)-rich protein 4d (LOC501323), mRNA [XM_576735]	1,12	1,22	1,15

XM_577380	XM_577380	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700001F09 (LOC501953), mRNA [XM_577380]	0,92	1,28	0,95
Y17323	Y17323	Rattus norvegicus CDK109 mRNA. [Y17323]	1,22	1,27	1,22

4.4 Liste des transcrits sous-accumulés à 24 h

Gene Name	Systematic Name	Description	Ratio 8h	Ratio 24h	Ratio 48h
A_44_P868279	A_44_P868279	Unknown	1,18	0,50	2,27
A_44_P899175	A_44_P899175	Unknown	1,07	0,75	0,92
A_44_P937542	A_44_P937542	Unknown	0,80	0,69	0,84
A_44_P944159	A_44_P944159	Unknown	0,95	0,73	0,78
AA893485	AA893485	AA893485 EST197288 Normalized rat liver, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RLIAD06 3' end, mRNA sequence [AA893485]	1,26	0,63	1,59
AA900893	AA900893	AA900893 UI-R-E0-dc-a-09-0-UI.s1 UI-R-E0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E0-dc-a-09-0-UI 3', mRNA sequence [AA900893]	1,13	0,80	1,36
AA957447	AA957447	AA957447 UI-R-E1-fy-h-05-0-UI.s1 UI-R-E1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E1-fy-h-05-0-UI 3', mRNA sequence [AA957447]	0,90	0,80	0,79
AA963075	AA963075	AA963075 UI-R-E1-fx-a-09-0-UI.s1 UI-R-E1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E1-fx-a-09-0-UI 3', mRNA sequence [AA963075]	0,92	0,56	1,19
AB072614	AB072614	Rattus norvegicus pseudogene for annexin II [AB072614]	0,78	0,57	0,72
Abhd3_predicted	XM_214618	PREDICTED: Rattus norvegicus abhydrolase domain containing 3 (predicted) (Abhd3_predicted), mRNA [XM_214618]	0,96	0,76	0,99
Acadvl	NM_012891	Rattus norvegicus acyl-Coenzyme A dehydrogenase, very long chain (Acadvl), mRNA [NM_012891]	1,06	0,77	0,87
Adh1	NM_019286	Rattus norvegicus alcohol dehydrogenase 1 (Adh1), mRNA [NM_019286]	1,08	0,34	0,47
Adn	XM_343169	PREDICTED: Rattus norvegicus adipin (Adn), mRNA [XM_343169]	0,87	0,76	0,86
Agxt2	NM_031835	Rattus norvegicus alanine-glyoxylate aminotransferase 2 (Agxt2), mRNA [NM_031835]	1,03	0,82	0,94
AI008646	AI008646	AI008646 EST203097 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone REMBB18 3' end, mRNA sequence [AI008646]	1,47	0,77	1,17
AI045508	AI045508	AI045508 UI-R-C1-kj-g-08-0-UI.s1 UI-R-C1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C1-kj-g-08-0-UI 3', mRNA sequence [AI045508]	0,82	0,81	1,55
AI233846	AI233846	AI233846 EST230534 Normalized rat lung, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RLUCR88 3' end, mRNA sequence [AI233846]	0,89	0,73	0,91
AI233993	AI233993	AI233993 EST230681 Normalized rat lung, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RLUCT82 3' end, mRNA sequence [AI233993]	1,18	0,81	1,22
AI234817	AI234817	AI234817 EST231379 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone ROVCI13 3' end, mRNA sequence [AI234817]	1,03	0,63	0,38
AI236218	AI236218	AI236218 EST232780 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone ROVDC82 3' end, mRNA sequence [AI236218]	1,20	0,83	1,02
Akr1b8	NM_173136	Rattus norvegicus aldo-keto reductase family 1, member B8 (Akr1b8), mRNA [NM_173136]	0,90	0,79	2,02
Alas1	NM_024484	Rattus norvegicus aminolevulinic acid synthase 1 (Alas1), mRNA [NM_024484]	1,10	0,77	1,28
Aldh2	NM_032416	Rattus norvegicus aldehyde dehydrogenase 2 (Aldh2), mRNA [NM_032416]	0,98	0,70	1,04
Aldh5a1	XM_214478	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Succinate semialdehyde dehydrogenase (NAD(+)-dependent succinic semialdehyde dehydrogenase) (LOC291133), mRNA [XM_214478]	0,53	0,80	1,24
Aldoc	NM_012497	Rattus norvegicus aldolase C, fructose-biphosphate (Aldoc), mRNA [NM_012497]	0,75	0,56	0,55
Anxa2	NM_019905	Rattus norvegicus annexin A2 (Anxa2), mRNA [NM_019905]	0,98	0,60	0,76
Anxa5	NM_013132	Rattus norvegicus annexin A5 (Anxa5), mRNA [NM_013132]	0,81	0,72	0,96
Anxa5	NM_013132	Rattus norvegicus annexin A5 (Anxa5), mRNA [NM_013132]	0,86	0,76	0,93
Ass	NM_013157	Rattus norvegicus arginosuccinate synthetase (Ass), mRNA [NM_013157]	1,16	0,36	1,06
AW141791	AW141791	AW141791 EST291884 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICG77 5' end similar to NAD-dependent methylenetetrahydrofolate dehydrogenase, mRNA sequence [AW141791]	1,10	0,72	0,68
AW142560	AW142560	AW142560 EST292812 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIAP52 5' end, mRNA sequence [AW142560]	0,92	0,72	0,93
AW143025	AW143025	AW143025 EST293320 Normalized rat muscle, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBB83 5' end, mRNA sequence [AW143025]	0,86	0,79	0,85
AW144169	AW144169	AW144169 EST294465 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICK31 5' end, mRNA sequence [AW144169]	0,99	0,79	1,08
AW917512	AW917512	AW917512 EST348816 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEE74 5' end, mRNA sequence [AW917512]	0,92	0,46	0,68
AW917764	AW917764	AW917764 EST349068 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEH67 5' end, mRNA sequence [AW917764]	1,08	0,68	0,81
AY390380	AY390380	Rattus norvegicus unknown mRNA. [AY390380]	0,91	0,66	0,86

Bcat2	NM_022400	Rattus norvegicus branched chain aminotransferase 2, mitochondrial (Bcat2), mRNA [NM_022400]	1,05	0,67	0,68
BE098727	BE098727	BE098727 UI-R-BJ1-atd-c-03-0-UI.s1 UI-R-BJ1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ1-atd-c-03-0-UI 3', mRNA sequence [BE098727]	1,27	0,63	1,33
BF289650	BF289650	BF289650 EST454241 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA clone Rattus norvegicus cDNA clone RGIHJ43, mRNA sequence [BF289650]	0,94	0,83	1,26
BF548067	BF548067	BF548067 UI-R-A0-ad-f-05-0-UI.r1 UI-R-A0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A0-ad-f-05-0-UI 5', mRNA sequence [BF548067]	1,18	0,82	0,80
BF556125	BF556125	BF556125 UI-R-A1-eh-a-09-0-UI.r1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-eh-a-09-0-UI 5', mRNA sequence [BF556125]	0,83	0,74	0,77
BF557949	BF557949	BF557949 UI-R-C0-hg-a-04-0-UI.r1 UI-R-C0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C0-hg-a-04-0-UI 5', mRNA sequence [BF557949]	1,21	0,81	0,63
BF567489	BF567489	UI-R-BO0-aib-a-09-0-UI.r1 UI-R-BO0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BO0-aib-a-09-0-UI 5', mRNA sequence [BF567489]	0,64	0,58	0,96
BF567631	BF567631	BF567631 UI-R-BO0-ags-d-02-0-UI.r1 UI-R-BO0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BO0-ags-d-02-0-UI 5', mRNA sequence [BF567631]	1,02	0,77	0,86
BG664685	BG664685	BG664685 DRABHF03 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRABHF03 5', mRNA sequence [BG664685]	1,35	0,77	1,62
BG665929	BG665929	BG665929 DRACKE03 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRACKE03 5', mRNA sequence [BG665929]	1,07	0,74	0,48
BG671734	BG671734	BG671734 DRNBXB04 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRNBXB04 5', mRNA sequence [BG671734]	1,11	0,82	0,85
BI395655	BI395655	BI395655 EST531526 Rat gene index, normalized rat, norvegicus Rattus norvegicus cDNA clone RGIHT82 5' end, mRNA sequence [BI395655]	0,76	0,51	0,65
BM387057	BM387057	BM387057 UI-R-CN1-cji-e-12-0-UI.s1 UI-R-CN1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CN1-cji-e-12-0-UI 3', mRNA sequence [BM387057]	1,08	0,78	1,12
BQ195982	BQ195982	BQ195982 UI-R-CN1-cmn-i-14-0-UI.s1 UI-R-CN1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CN1-cmn-i-14-0-UI 3', mRNA sequence [BQ195982]	1,07	0,82	0,91
Bzrp	NM_012515	Rattus norvegicus benzodiazepine receptor (Bzrp), mRNA [NM_012515]	0,94	0,60	0,45
Camk2d	S69671	Ca2+/calmodulin-dependent protein kinase isoform delta B {alternatively spliced} [rats, heart, mRNA Partial, 120 nt]. [S69671]	1,11	0,70	0,92
Card9	NM_022303	Rattus norvegicus caspase recruitment domain family, member 9 (Card9), mRNA [NM_022303]	1,06	0,62	0,89
CB547615	CB547615	CB547615 AMGNNUC:NRHZ1-00016-F11-A nrhz1 (10741) Rattus norvegicus cDNA clone nrhz1-00016-f11 5', mRNA sequence [CB547615]	1,42	0,67	2,17
CB547989	CB547989	CB547989 AMGNNUC:NRHY5-00285-H7-A W Rat hypothalamus (10471) Rattus norvegicus cDNA clone nrhy5-00285-h7 5', mRNA sequence [CB547989]	0,63	0,52	0,51
Ccl17	NM_057151	Rattus norvegicus small inducible cytokine subfamily A (Cys-Cys), member 17 (Ccl17), mRNA [NM_057151]	0,79	0,58	0,75
Cd6	NM_175577	Rattus norvegicus CD6 antigen (Cd6), mRNA [NM_175577]	0,68	0,78	0,87
Ces3	NM_133295	Rattus norvegicus carboxylesterase 3 (Ces3), mRNA [NM_133295]	1,11	0,79	0,60
Chd11_predicted	XM_227510	PREDICTED: Rattus norvegicus chromodomain helicase DNA binding protein 1-like (predicted) (Chd11_predicted), mRNA [XM_227510]	1,05	0,70	0,67
Chd7_predicted	XM_232671	PREDICTED: Rattus norvegicus chromodomain helicase DNA binding protein 7 (predicted) (Chd7_predicted), mRNA [XM_232671]	0,81	0,41	0,84
Chrna4	NM_024354	Rattus norvegicus cholinergic receptor, nicotinic, alpha polypeptide 4 (Chrna4), mRNA [NM_024354]	0,90	0,81	0,88
Cldn9_predicted	NM_001011889	Rattus norvegicus claudin 9 (predicted) (Cldn9_predicted), mRNA [NM_001011889]	1,26	0,82	1,04
CLIC6	NM_176078	Rattus norvegicus chloride intracellular channel 6 (CLIC6), mRNA [NM_176078]	0,84	0,75	0,91
Cml5	AF187100	Rattus norvegicus putative N-acetyltransferase CML5 (Cml5) mRNA, partial cds. [AF187100]	0,68	0,28	0,59
Col1a2	NM_053356	Rattus norvegicus procollagen, type I, alpha 2 (Col1a2), mRNA [NM_053356]	0,85	0,81	0,73
Crot	NM_031987	Rattus norvegicus carnitine O-octanoyltransferase (Crot), mRNA [NM_031987]	1,11	0,75	0,80
Ctrb	NM_012536	Rattus norvegicus Chymotrypsinogen B (Ctrb), mRNA [NM_012536]	1,09	0,75	1,42
Ctsh	NM_012939	Rattus norvegicus cathepsin H (Ctsh), mRNA [NM_012939]	1,12	0,72	0,62
Cxcl12	AF217564	Rattus norvegicus stromal cell-derived factor-1 gamma mRNA, complete cds. [AF217564]	1,06	0,49	0,58
Cxcl12	NM_022177	Rattus norvegicus chemokine (C-X-C motif) ligand 12 (Cxcl12), mRNA [NM_022177]	0,97	0,81	0,87
Cyp11a1	NM_017286	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 11, subfamily a, polypeptide 1 (Cyp11a1), mRNA [NM_017286]	1,15	0,23	1,65
Cyp17a1	NM_012753	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 17, subfamily a, polypeptide 1 (Cyp17a1), mRNA [NM_012753]	1,38	0,29	2,17
Cyp1b1	NM_012940	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 1, subfamily b, polypeptide 1 (Cyp1b1), mRNA [NM_012940]	1,22	0,80	0,99
Cyp1b1	NM_012940	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 1, subfamily b, polypeptide 1 (Cyp1b1), mRNA [NM_012940]	1,17	0,45	0,79
Dci	NM_017306	Rattus norvegicus dodecenoyl-coenzyme A delta isomerase (Dci), mRNA [NM_017306]	0,81	0,80	0,77
Decr1	NM_057197	Rattus norvegicus 2,4-dienoyl CoA reductase 1, mitochondrial (Decr1), mRNA [NM_057197]	0,92	0,77	0,58
Dhrs4	NM_153315	Rattus norvegicus dehydrogenase/reductase (SDR family) member 4 (Dhrs4), mRNA [NM_153315]	1,25	0,78	1,14
Dp1_predicted	XM_344661	PREDICTED: Rattus norvegicus deleted in polyposis 1 (predicted) (Dp1_predicted), mRNA [XM_344661]	1,15	0,81	0,85
Dpt_predicted	XM_213925	PREDICTED: Rattus norvegicus dermatopontin (predicted) (Dpt_predicted), mRNA [XM_213925]	1,18	0,80	1,09
Echs1	NM_078623	Rattus norvegicus enoyl Coenzyme A hydratase, short chain, 1, mitochondrial (Echs1), mRNA [NM_078623]	1,10	0,78	0,79
ENSRNOT00000041944	ENSRNOT00000041944	Unknown	0,60	0,68	0,51
Fabp3	NM_024162	Rattus norvegicus fatty acid binding protein 3 (Fabp3), mRNA [NM_024162]	1,21	0,53	0,51
Fads1	NM_053445	Rattus norvegicus fatty acid desaturase 1 (Fads1), mRNA [NM_053445]	0,95	0,43	0,80
Fh1	NM_017005	Rattus norvegicus fumarate hydratase 1 (Fh1), mRNA [NM_017005]	0,85	0,78	0,83
Fkbp5_predicted	NM_001012174	Rattus norvegicus FK506 binding protein 5 (predicted) (Fkbp5_predicted), mRNA [NM_001012174]	1,14	0,83	0,82
Fmo3	NM_053433	Rattus norvegicus flavin containing monooxygenase 3 (Fmo3), mRNA [NM_053433]	1,30	0,80	0,72

G0s2_predicted	NM_001009632	Rattus norvegicus G0/G1 switch gene 2 (predicted) (G0s2_predicted), mRNA [NM_001009632]	1,11	0,46	0,38
Gadd45g_predicted	XM_237999	PREDICTED: Rattus norvegicus growth arrest and DNA-damage-inducible 45 gamma (predicted) (Gadd45g_predicted), mRNA [XM_237999]	0,55	0,61	0,70
Gal	NM_033237	Rattus norvegicus galanin (Gal), mRNA [NM_033237]	0,87	0,74	0,83
Gbp2	NM_133624	Rattus norvegicus guanylate nucleotide binding protein 2 (Gbp2), mRNA [NM_133624]	0,79	0,79	0,80
Gdf1_predicted	XM_224733	PREDICTED: Rattus norvegicus growth differentiation factor 1 (predicted) (Gdf1_predicted), mRNA [XM_224733]	0,83	0,60	0,95
Ggcx	NM_031756	Rattus norvegicus gamma-glutamyl carboxylase (Ggcx), mRNA [NM_031756]	1,28	0,73	1,00
Glul	BC072694	Rattus norvegicus glutamine synthetase 1, mRNA (cDNA clone MGC:91746 IMAGE:7103110), complete cds [BC072694]	1,02	0,56	0,71
Glul	BC072694	Rattus norvegicus glutamine synthetase 1, mRNA (cDNA clone MGC:91746 IMAGE:7103110), complete cds [BC072694]	0,95	0,62	0,83
Grhpr_predicted	XM_216410	PREDICTED: Rattus norvegicus glyoxylate reductase/hydroxypyruvate reductase (predicted) (Grhpr_predicted), mRNA [XM_216410]	0,81	0,69	0,72
Gsta5	NM_031509	Rattus norvegicus glutathione S-transferase A5 (Gsta5), mRNA [NM_031509]	0,98	0,67	0,62
Gstm1	NM_017014	Rattus norvegicus glutathione S-transferase, mu 1 (Gstm1), mRNA [NM_017014]	1,14	0,81	0,75
Gzmc	NM_134332	Rattus norvegicus granzyme C (Gzmc), mRNA [NM_134332]	0,77	0,67	0,70
Hao2	NM_032082	Rattus norvegicus hydroxyacid oxidase 2 (long chain) (Hao2), mRNA [NM_032082]	1,27	0,77	0,69
Hmgcs2	NM_173094	Rattus norvegicus 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2 (Hmgcs2), mRNA [NM_173094]	0,81	0,80	0,51
Hod	NM_133621	Rattus norvegicus homeobox only domain (Hod), mRNA [NM_133621]	1,05	0,68	0,77
Hp	NM_012582	Rattus norvegicus haptoglobin (Hp), mRNA [NM_012582]	1,25	0,30	0,59
Hpcl2	NM_053493	Rattus norvegicus 2-hydroxyphytanoyl-Coenzyme A lyase (Hpcl2), mRNA [NM_053493]	0,99	0,82	0,88
Hrasls3	NM_017060	Rattus norvegicus HRAS like suppressor (Hrasls3), mRNA [NM_017060]	0,97	0,65	0,51
Hrasls3	NM_017060	Rattus norvegicus HRAS like suppressor (Hrasls3), mRNA [NM_017060]	1,11	0,68	0,55
Hrsp12	NM_031714	Rattus norvegicus heat-responsive protein 12 (Hrsp12), mRNA [NM_031714]	1,07	0,76	0,75
Hsd17b10	NM_031682	Rattus norvegicus hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 10 (Hsd17b10), mRNA [NM_031682]	1,01	0,81	0,72
Hsd17b3	NM_054007	Rattus norvegicus hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 3 (Hsd17b3), mRNA [NM_054007]	0,82	0,58	1,06
Hyal2	NM_172040	Rattus norvegicus hyaluronidase 2 (Hyal2), mRNA [NM_172040]	0,79	0,67	0,72
Igf1	M17594	Rat pre-pro-insulin-like growth factor mRNA, class C, 5' end. [M17594]	0,77	0,61	0,65
Insl3	NM_053680	Rattus norvegicus insulin-like 3 (Insl3), mRNA [NM_053680]	1,17	0,62	0,44
Irf7_predicted	XM_215121	PREDICTED: Rattus norvegicus interferon regulatory factor 7 (predicted) (Irf7_predicted), mRNA [XM_215121]	0,80	0,64	0,73
Khk	NM_031855	Rattus norvegicus ketohexokinase (Khk), mRNA [NM_031855]	1,22	0,74	0,77
Lgals1	NM_019904	Rattus norvegicus lectin, galactose binding, soluble 1 (Lgals1), mRNA [NM_019904]	0,93	0,49	0,56
Lgals3	NM_031832	Rattus norvegicus lectin, galactose binding, soluble 3 (Lgals3), mRNA [NM_031832]	1,07	0,73	0,90
Lgi4	NM_199499	Rattus norvegicus leucine-rich repeat LGI family, member 4 (Lgi4), mRNA [NM_199499]	0,91	0,68	0,66
Lgl1	NM_138518	Rattus norvegicus late gestation lung protein 1 (Lgl1), mRNA [NM_138518]	0,97	0,65	0,78
LOC290877	XM_214392	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4933417N17 (LOC290877), mRNA [XM_214392]	2,43	0,67	0,46
LOC300761	XM_217153	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to HCV NS3-transactivated protein 2 (LOC300761), mRNA [XM_217153]	0,90	0,72	0,96
LOC303563	XM_220939	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to amino-acid N-acetyltransferase (LOC303563), mRNA [XM_220939]	0,99	0,82	1,02
LOC309161	XM_219510	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Delta-interacting protein A (Hepatitis delta antigen interacting protein A) (LOC309161), mRNA [XM_219510]	0,88	0,61	0,70
LOC310011	XM_226703	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to core 2 beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase 3 (LOC310011), mRNA [XM_226703]	1,27	0,81	1,11
LOC313970	XM_234037	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (phosphorylating) (EC 1.2.1.12) - mouse (LOC313970), mRNA [XM_234037]	0,61	0,78	0,83
LOC314713	XM_235023	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to down-regulated in metastasis (LOC314713), mRNA [XM_235023]	1,16	0,83	1,11
LOC317026	XM_229658	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC317026 (LOC317026), mRNA [XM_229658]	0,93	0,79	0,95
LOC363325	XM_347125	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC363325 (LOC363325), mRNA [XM_347125]	0,76	0,83	0,88
LOC363325	XM_347125	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC363325 (LOC363325), mRNA [XM_347125]	0,98	0,83	0,95
LOC363365	XM_347129	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC363365 (LOC363365), mRNA [XM_347129]	0,84	0,76	0,89
LOC364361	XM_344384	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA A430107P09 gene (LOC364361), mRNA [XM_344384]	0,66	0,80	0,84
LOC366145	XM_345411	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L6 (LOC366145), mRNA [XM_345411]	1,67	0,82	0,99
LOC367372	XM_346110	Rattus norvegicus similar to Myosin IXb (Unconventional myosin-9b) (LOC367372), mRNA [XM_346110]	0,80	0,80	0,89
Lpd	NM_134389	Rattus norvegicus lipidosin (Lpd), mRNA [NM_134389]	1,13	0,80	0,79
M34230	M34230	RATHPA1 Rat haptoglobin (Hp) gene, exons 1,2 and 3 [M34230]	1,00	0,40	0,58
Map1b	XM_215469	Rattus norvegicus similar to Microtubule-associated protein 1B (MAP 1B) (Neuraxin) (LOC294684), mRNA [XM_215469]	1,04	0,81	1,00
Map1b	XM_215469	PREDICTED: Rattus norvegicus microtubule-associated protein 1b (Map1b), mRNA [XM_215469]	0,87	0,71	0,90
Mdh1	NM_033235	Rattus norvegicus malate dehydrogenase 1, NAD (soluble) (Mdh1), mRNA [NM_033235]	1,03	0,82	0,90

MGC112844	XM_342152	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to expressed sequence AI429613 (LOC361857), mRNA [XM_342152]	0,85	0,56	0,66
Mgp	NM_012862	Rattus norvegicus matrix Gla protein (Mgp), mRNA [NM_012862]	1,01	0,77	0,83
Mgst3_predicted	XM_213943	PREDICTED: Rattus norvegicus microsomal glutathione S-transferase 3 (predicted) (Mgst3_predicted), mRNA [XM_213943]	0,86	0,71	0,72
Mtch1_predicted	XM_215358	PREDICTED: Rattus norvegicus mitochondrial carrier homolog 1 (C. elegans) (predicted) (Mtch1_predicted), mRNA [XM_215358]	1,09	0,73	1,04
Ngfrap1	NM_053401	Rattus norvegicus nerve growth factor receptor (TNFRSF16) associated protein 1 (Ngfrap1), mRNA [NM_053401]	1,32	0,77	0,92
Nipsnap1_predicted	XM_341249	PREDICTED: Rattus norvegicus 4-nitrophenylphosphatase domain and non-neuronal SNAP25-like protein homolog 1 (C. elegans) (predicted) (Nipsnap1_predicted), mRNA [XM_341249]	0,87	0,65	0,63
NM_001013043	NM_001013043	Rattus norvegicus secreted and transmembrane 1 (predicted) (Sectm1_predicted), mRNA [NM_001013043]	1,06	0,66	0,80
NM_001013082	NM_001013082	Rattus norvegicus paraoxonase 2 (predicted) (Pon2_predicted), mRNA [NM_001013082]	0,99	0,79	0,81
NM_001013889	NM_001013889	Rattus norvegicus carboxylesterase-like (LOC291863), mRNA [NM_001013889]	1,05	0,68	0,51
NM_001014071	NM_001014071	Rattus norvegicus similar to Mitogen-inducible gene 6 protein homolog (Mig-6) (Gene 33 polypeptide) (predicted) (RGD1307599_predicted), mRNA [NM_001014071]	1,30	0,80	0,79
NM_001014161	NM_001014161	Rattus norvegicus similar to NADP+-specific isocitrate dehydrogenase (LOC361596), mRNA [NM_001014161]	0,97	0,73	0,82
NM_001017466	NM_001017466	Rattus norvegicus Snf7 homologue associated with Alix 3 (MGC108776), mRNA [NM_001017466]	0,86	0,81	0,85
NM_001024267	NM_001024267	Rattus norvegicus similar to Microsomal signal peptidase 23 kDa subunit (SPase 22 kDa subunit) (SPC22/23) (MGC109340), mRNA [NM_001024267]	0,95	0,70	0,71
NM_001024345	NM_001024345	Rattus norvegicus similar to tropomyosin 1, embryonic fibroblast - rat (MGC109519), mRNA [NM_001024345]	0,89	0,82	0,65
NM_001030026	NM_001030026	Rattus norvegicus interferon gamma inducible protein 30 (predicted) (Ifi30_predicted), mRNA [NM_001030026]	1,13	0,79	0,77
NM_201423	NM_201423	Rattus norvegicus UDP glycosyltransferase 1 family polypeptide A2 (Ugt1a2), mRNA [NM_201423]	1,06	0,59	0,52
NM_201423	NM_201423	Rattus norvegicus UDP glycosyltransferase 1 family polypeptide A2 (Ugt1a2), mRNA [NM_201423]	0,92	0,80	0,80
Oat	NM_022521	Rattus norvegicus ornithine aminotransferase (Oat), mRNA [NM_022521]	0,79	0,73	0,73
Oat	NM_022521	Rattus norvegicus ornithine aminotransferase (Oat), mRNA [NM_022521]	0,83	0,68	0,61
Olig1	NM_021770	Rattus norvegicus oligodendrocyte transcription factor 1 (Olig1), mRNA [NM_021770]	1,24	0,71	0,88
P2rx7	NM_019256	Rattus norvegicus purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 7 (P2rx7), mRNA [NM_019256]	0,76	0,73	1,54
Pah	NM_012619	Rattus norvegicus phenylalanine hydroxylase (Pah), mRNA [NM_012619]	0,83	0,21	0,27
Pdcd8	NM_031356	Rattus norvegicus programmed cell death 8 (Pdcd8), mRNA [NM_031356]	0,95	0,76	0,86
Pdlim1	NM_017365	Rattus norvegicus PDZ and LIM domain 1 (elfin) (Pdlim1), mRNA [NM_017365]	0,98	0,82	0,85
Peci	NM_001006966	Rattus norvegicus similar to Peci protein (Peci), mRNA [NM_001006966]	1,09	0,83	0,82
Pem	NM_022175	Rattus norvegicus placenta and embryos oncofetal gene (Pem), mRNA [NM_022175]	1,00	0,57	0,86
Pfn2	NM_030873	Rattus norvegicus profilin 2 (Pfn2), mRNA [NM_030873]	0,84	0,74	0,86
Pnoc	NM_013007	Rattus norvegicus prepronociceptin (Pnoc), mRNA [NM_013007]	0,67	0,80	1,02
Prdx3	NM_022540	Rattus norvegicus peroxiredoxin 3 (Prdx3), mRNA [NM_022540]	1,16	0,78	1,09
Prrx1	NM_153821	Rattus norvegicus paired related homeobox 1 (Prrx1), mRNA [NM_153821]	0,87	0,75	0,76
Prss11	NM_031721	Rattus norvegicus protease, serine, 11 (Igf binding) (Prss11), mRNA [NM_031721]	0,89	0,74	0,72
Psmb8	NM_080767	Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type 8 (Psmb8), mRNA [NM_080767]	0,97	0,77	0,75
Psmb9	NM_012708	Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type 9 (Psmb9), mRNA [NM_012708]	0,99	0,61	0,79
Ptges	NM_021583	Rattus norvegicus prostaglandin E synthase (Ptges), mRNA [NM_021583]	1,04	0,81	0,80
RGD:708363	NM_173123	Rattus norvegicus cytochrome P450 4F4 (Cyp4f4), mRNA [NM_173123]	0,86	0,44	0,58
RGD:735147	NM_198772	Rattus norvegicus Unknown (protein for MGC:72974) (MGC72974), mRNA [NM_198772]	0,44	0,76	1,58
RGD1305326_predicted	XM_215707	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ20647 (predicted) (LOC295462), mRNA [XM_215707]	0,89	0,72	1,02
RGD1306105_predicted	XM_341190	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2610318G18 (predicted) (LOC360916), mRNA [XM_341190]	0,82	0,78	1,08
RGD1306256_predicted	XM_341812	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ30373 (predicted) (LOC361528), mRNA [XM_341812]	0,83	0,67	0,60
RGD1307772_predicted	XM_214666	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to mKIAA1930 protein (predicted) (LOC291974), mRNA [XM_214666]	0,84	0,62	0,85
RGD1308064_predicted	XM_214293	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to FKSG24 (predicted) (LOC290645), mRNA [XM_214293]	0,88	0,67	0,68
RGD1308093_predicted	XM_341309	Rattus norvegicus similar to FLJ00128 protein (LOC361034), mRNA [XM_341309]	0,86	0,77	1,08
RGD1310110_predicted	XM_341307	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 3632451O06Rik protein (predicted) (LOC361032), mRNA [XM_341307]	0,74	0,66	0,55
RGD1310165_predicted	XM_342416	Rattus norvegicus LOC362113 (LOC362113), mRNA [XM_342416]	0,99	0,74	1,52
RGD1310224_predicted	NM_001009275	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1810022C23 (predicted) (RGD1310224_predicted), mRNA [NM_001009275]	1,12	0,65	0,68
RGD1310433_predicted	XM_238368	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to mKIAA1757 protein (predicted) (LOC297514), mRNA [XM_238368]	0,91	0,83	0,93
RGD1310648_predicted	XM_213659	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Fat cell-specific low molecular weight protein (Fat tissue-specific low MW protein) (predicted) (LOC288271), mRNA [XM_213659]	1,05	0,67	1,12
RGD1311493_predicted	XM_213493	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CG13379-PA (predicted) (LOC287734), mRNA [XM_213493]	0,72	0,79	1,66
Rgs2	NM_053453	Rattus norvegicus regulator of G-protein signaling 2 (Rgs2), mRNA [NM_053453]	0,76	0,75	0,76

Rnf24_predicted	XM_342522	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger protein 24 (predicted) (Rnf24_predicted), mRNA [XM_342522]	1,41	0,81	1,70
RragB	NM_053972	Rattus norvegicus Ras-related GTP binding B (RragB), mRNA [NM_053972]	1,06	0,81	0,89
S43941	S43941	insulin-like growth factor I {exon 6} [rats, Genomic/mRNA, 7224 nt] [S43941]	0,83	0,40	0,71
Sars2_predicted	XM_214884	PREDICTED: Rattus norvegicus seryl-tRNA synthetase 2 (predicted) (Sars2_predicted), mRNA [XM_214884]	1,05	0,83	1,02
Scarb1	NM_031541	Rattus norvegicus scavenger receptor class B, member 1 (Scarb1), mRNA [NM_031541]	0,82	0,75	2,03
Scarb1	NM_031541	Rattus norvegicus scavenger receptor class B, member 1 (Scarb1), mRNA [NM_031541]	1,05	0,32	3,17
Scp2	NM_138508	Rattus norvegicus sterol carrier protein 2 (Scp2), mRNA [NM_138508]	0,94	0,79	0,77
Serpina12	NM_138825	Rattus norvegicus OL-64 protein (Serpina12), mRNA [NM_138825]	0,96	0,59	1,01
Sgol2_predicted	XM_237176	PREDICTED: Rattus norvegicus shugoshin-like 2 (S. pombe) (predicted) (Sgol2_predicted), mRNA [XM_237176]	1,28	0,69	1,66
Slc16a11_predicted	XM_213334	PREDICTED: Rattus norvegicus solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 11 (predicted) (Slc16a11_predicted), mRNA [XM_213334]	1,13	0,72	0,77
Slc1a3	NM_019225	Rattus norvegicus solute carrier family 1 (glial high affinity glutamate transporter), member 3 (Slc1a3), mRNA [NM_019225]	0,88	0,58	0,75
Slc22a7	NM_053537	Rattus norvegicus solute carrier family 22 (organic anion transporter), member 7 (Slc22a7), mRNA [NM_053537]	0,75	0,66	0,89
Slc26a7_predicted	XM_232793	PREDICTED: Rattus norvegicus solute carrier family 26, member 7 (predicted) (Slc26a7_predicted), mRNA [XM_232793]	1,33	0,82	1,15
Slc37a4	NM_031589	Rattus norvegicus solute carrier family 37 (glycerol-6-phosphate transporter), member 4 (Slc37a4), mRNA [NM_031589]	0,82	0,61	0,74
Slc37a4	NM_031589	Rattus norvegicus solute carrier family 37 (glycerol-6-phosphate transporter), member 4 (Slc37a4), mRNA [NM_031589]	0,85	0,64	0,76
Slc7a5	NM_017353	Rattus norvegicus tumor-associated protein 1 (Slc7a5), mRNA [NM_017353]	0,88	0,73	0,90
Slc9a2	NM_012653	Rattus norvegicus solute carrier family 9, member 2 (Slc9a2), mRNA [NM_012653]	1,05	0,66	0,91
Snn	M81639	Rattus norvegicus stannin mRNA. [M81639]	0,95	0,76	0,89
Spp1	NM_012881	Rattus norvegicus secreted phosphoprotein 1 (Spp1), mRNA [NM_012881]	1,15	0,68	0,64
Ssg1	XM_573284	PREDICTED: Rattus norvegicus steroid sensitive gene 1 (Ssg1), mRNA [XM_573284]	0,96	0,67	0,62
Star	NM_031558	Rattus norvegicus steroidogenic acute regulatory protein (Star), mRNA [NM_031558]	1,18	0,47	1,94
Stat5a	NM_017064	Rattus norvegicus signal transducer and activator of transcription 5A (Stat5a), mRNA [NM_017064]	0,93	0,74	0,90
Steap_predicted	XM_216315	PREDICTED: Rattus norvegicus six transmembrane epithelial antigen of the prostate (predicted) (Steap_predicted), mRNA [XM_216315]	1,07	0,79	0,90
Sult1a1	NM_031834	Rattus norvegicus sulfotransferase family 1A, phenol-preferring, member 1 (Sult1a1), mRNA [NM_031834]	1,02	0,81	0,62
Susd3_predicted	XM_225203	PREDICTED: Rattus norvegicus sushi domain containing 3 (predicted) (Susd3_predicted), mRNA [XM_225203]	0,83	0,63	0,64
Svs5	NM_133516	Rattus norvegicus seminal vesicle secretion 5 (Svs5), mRNA [NM_133516]	0,87	0,69	2,07
Tagln	NM_031549	Rattus norvegicus transgelin (Tagln), mRNA [NM_031549]	0,95	0,76	0,70
TC519534	TC519534	Q7ZTU3 (Q7ZTU3) Wu:fj55c11 protein, partial (4%) [TC519534]	0,99	0,74	0,97
TC520616	TC520616	Q9ERK8 (Q9ERK8) Ubiquitin-conjugating enzyme MHR6BN, partial (19%) [TC520616]	1,12	0,83	0,98
TC522886	TC522886	Unknown	1,14	0,74	0,87
TC524064	TC524064	Q8BU53 (Q8BU53) Mus musculus 2 days pregnant adult female oviduct cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:E230038K10 product:procollagen-proline, 2-oxoglutarate 4-dioxygenase (proline 4-hydroxylase), alpha II polypeptide, full insert sequence,...	0,83	0,80	0,99
TC525855	TC525855	Unknown	1,15	0,81	0,95
TC529016	TC529016	Unknown	0,83	0,77	1,36
TC533122	TC533122	GST3_HUMAN (O14880) Microsomal glutathione S-transferase 3 (Microsomal GST-3) (Microsomal GST-III) , partial (80%) [TC533122]	0,93	0,74	0,84
TC535478	TC535478	Unknown	0,72	0,68	0,82
TC538999	TC538999	Unknown	0,86	0,82	0,76
TC539270	TC539270	Unknown	1,05	0,75	0,93
TC539445	TC539445	Q8CFJ7 (Q8CFJ7) Expressed sequence AW491445, partial (61%) [TC539445]	0,86	0,74	0,91
TC540333	TC540333	Q8JQW9 (Q8JQW9) Polyprotein (Fragment), partial (5%) [TC540333]	1,27	0,52	0,47
TC544327	TC544327	Unknown	1,33	0,82	1,04
TC544685	TC544685	Unknown	1,13	0,57	0,80
TC552204	TC552204	Q918W2 (Q918W2) 25 kDa triple gene block protein, partial (7%) [TC552204]	0,78	0,66	0,80
TC552207	TC552207	BC000702 MTCH1 protein {Homo sapiens;} , partial (48%) [TC552207]	1,22	0,74	1,00
TC553312	TC553312	Unknown	1,38	0,80	0,76
TC553589	TC553589	Q6GVJ0 (Q6GVJ0) Mitogen-activated protein kinase 2-associated protein 1r, partial (5%) [TC553588]	0,85	0,55	0,81
TC555021	TC555021	Unknown	0,89	0,54	0,58
TC555148	TC555148	BC017247 FUBP1 protein {Homo sapiens;} , partial (67%) [TC555148]	1,38	0,81	1,41
TC556580	TC556580	Q78JR7 (Q78JR7) Tmc6 protein, partial (27%) [TC556580]	0,89	0,78	1,01
TC556692	TC556692	Unknown	1,12	0,83	0,91
TC558851	TC558851	Q9R186 (Q9R186) Calcium transporter CaT1, partial (9%) [TC558851]	0,83	0,74	0,99

TC559468	TC559468	KTHY_MYCGA (Q7NAD7) Thymidylate kinase (dTMP kinase) , partial (8%) [TC559468]	1,06	0,76	0,98
TC561544	TC561544	Unknown	0,92	0,72	0,67
TC562876	TC562876	Unknown	1,15	0,65	3,76
Tjp3_predicted	XM_234924	PREDICTED: Rattus norvegicus tight junction protein 3 (predicted) (Tjp3_predicted), mRNA [XM_234924]	0,87	0,78	0,92
Tlr2	NM_198769	Rattus norvegicus toll-like receptor 2 (Tlr2), mRNA [NM_198769]	0,83	0,77	0,70
Tmem9_predicted	XM_213883	PREDICTED: Rattus norvegicus transmembrane protein 9 (predicted) (Tmem9_predicted), mRNA [XM_213883]	1,07	0,62	0,92
Trh	NM_013046	Rattus norvegicus thyrotropin releasing hormone (Trh), mRNA [NM_013046]	0,88	0,70	0,93
Txn1	NM_053800	Rattus norvegicus thioredoxin 1 (Txn1), mRNA [NM_053800]	1,00	0,76	0,71
U40628	U40628	Rattus norvegicus clone BB.1.4.1 unknown Glu-Pro dipeptide repeat protein mRNA, complete cds. [U40628]	2,41	0,70	1,66
Vcam1	NM_012889	Rattus norvegicus vascular cell adhesion molecule 1 (Vcam1), mRNA [NM_012889]	1,13	0,43	0,53
Vezf1_predicted	XM_213421	PREDICTED: Rattus norvegicus vascular endothelial zinc finger 1 (predicted) (Vezf1_predicted), mRNA [XM_213421]	1,11	0,79	1,02
Wdhd1_predicted	XM_223933	PREDICTED: Rattus norvegicus WD repeat and HMG-box DNA binding protein 1 (predicted) (Wdhd1_predicted), mRNA [XM_223933]	0,84	0,70	0,71
Wfdc1	NM_133581	Rattus norvegicus WAP four-disulfide core domain 1 (Wfdc1), mRNA [NM_133581]	0,99	0,70	0,89
XM_214671	XM_214671	Rattus norvegicus hypothetical LOC291982 (LOC291982), mRNA [XM_214671]	1,03	0,81	0,72
XM_215067	XM_215067	Rattus norvegicus similar to apolipoprotein B48 receptor (LOC293486), mRNA [XM_215067]	0,77	0,66	1,14
XM_341038	XM_341038	Rattus norvegicus similar to chromosome 7 open reading frame 26 (LOC360769), mRNA [XM_341038]	0,83	0,83	1,11
XM_343822	XM_343822	Rattus norvegicus similar to Bex1 protein (LOC363499), mRNA [XM_343822]	0,79	0,64	0,71
XM_573364	XM_573364	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to G protein-coupled receptor 146 (LOC498153), mRNA [XM_573364]	0,86	0,80	1,11
XM_573691	XM_573691	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to myozenin 1 (LOC498440), mRNA [XM_573691]	1,06	0,81	0,63
XM_576597	XM_576597	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to adaptor-related protein complex AP-1, sigma 3 (LOC501170), mRNA [XM_576597]	1,38	0,82	0,94
XM_579917	XM_579917	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC499125 (LOC499125), mRNA [XM_579917]	0,89	0,79	0,92
XM_580199	XM_580199	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC501485 (LOC501485), mRNA [XM_580199]	0,72	0,68	0,81
Yc2	NM_001009920	Rattus norvegicus glutathione S-transferase Yc2 subunit (Yc2), mRNA [NM_001009920]	1,06	0,67	0,60
Zfp60_predicted	XM_218369	Rattus norvegicus similar to Zinc finger protein 60 (Zfp-60) (Zinc finger protein Mfg-3) (LOC292740), mRNA [XM_218369]	1,38	0,73	1,33

4.5 Liste des transcrits sur-accumulés à 48 h

Gene Name	Systematic Name	Description	Ratio 8h	Ratio 24h	Ratio 48h
A_44_P215602	A_44_P215602	Unknown	0,80	1,02	1,46
A_44_P368386	A_44_P368386	Unknown	0,85	0,81	1,71
A_44_P400591	A_44_P400591	Unknown	1,16	1,03	1,25
A_44_P466474	A_44_P466474	Unknown	0,94	0,93	1,42
A_44_P667768	A_44_P667768	Unknown	0,78	0,92	1,31
A_44_P729100	A_44_P729100	Unknown	1,18	0,80	1,49
A_44_P760131	A_44_P760131	Unknown	1,06	1,00	1,29
A_44_P821513	A_44_P821513	Unknown	1,00	0,85	1,30
A_44_P822100	A_44_P822100	Unknown	0,98	0,95	1,24
A_44_P985331	A_44_P985331	Unknown	0,94	0,91	1,43
AA923898	AA923898	AA923898 UI-R-A1-dr-b-12-0-UI.s1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-dr-b-12-0-UI 3', mRNA sequence [AA923898]	1,39	0,86	1,33
AA924381	AA924381	AA924381 UI-R-A1-ds-a-09-0-UI.s1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-ds-a-09-0-UI 3', mRNA sequence [AA924381]	0,86	0,80	1,21
AA963087	AA963087	AA963087 UI-R-E1-fx-b-09-0-UI.s1 UI-R-E1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E1-fx-b-09-0-UI 3', mRNA sequence [AA963087]	0,88	1,17	2,05
AA964368	AA964368	AA964368 UI-R-C0-gw-g-09-0-UI.s1 UI-R-C0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C0-gw-g-09-0-UI 3', mRNA sequence [AA964368]	1,19	1,11	1,57
AA965274	AA965274	AA965274 UI-R-C0-hd-c-10-0-UI.s1 UI-R-C0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C0-hd-c-10-0-UI 3', mRNA sequence [AA965274]	0,94	0,81	1,27
Adprt2_predicted	XM_214157	PREDICTED: Rattus norvegicus ADP-ribosyltransferase (NAD+, poly(ADP-ribose) polymerase)-like 2 (predicted) (Adprt2_predicted), mRNA [XM_214157]	0,99	1,10	1,23

AI045508	AI045508	AI045508 UI-R-C1-kj-g-08-0-UI.s1 UI-R-C1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C1-kj-g-08-0-UI 3', mRNA sequence [AI045508]	0,82	0,81	1,55
AI136639	AI136639	AI136639 UI-R-C2p-ob-f-08-0-UI.s1 UI-R-C2p Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C2p-ob-f-08-0-UI 3', mRNA sequence [AI136639]	0,97	0,90	1,29
AI170501	AI170501	AI170501 EST216429 Normalized rat lung, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RLUCO50 3' end, mRNA sequence [AI170501]	0,24	0,89	1,53
AI172074	AI172074	AI172074 EST218069 Normalized rat muscle, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RMUBU58 3' end, mRNA sequence [AI172074]	1,41	1,24	1,87
AI234098	AI234098	AI234098 EST230786 Normalized rat lung, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RLUCV19 3' end, mRNA sequence [AI234098]	0,93	1,24	1,32
Akr1b8	NM_173136	Rattus norvegicus aldo-keto reductase family 1, member B8 (Akr1b8), mRNA [NM_173136]	0,90	0,79	2,02
Arhgap12_predicted	XM_225439	PREDICTED: Rattus norvegicus Rho GTPase activating protein 12 (predicted) (Arhgap12_predicted), mRNA [XM_225439]	0,91	1,33	1,25
Atf6_predicted	XM_222871	PREDICTED: Rattus norvegicus activating transcription factor 6 (predicted) (Atf6_predicted), mRNA [XM_222871]	1,02	1,11	1,25
AW253396	AW253396	AW253396 UI-R-BJ0-aen-d-08-0-UI.s1 UI-R-BJ0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ0-aen-d-08-0-UI 3', mRNA sequence [AW253396]	1,03	0,85	1,29
AW535083	AW535083	AW535083 UI-R-C4-als-a-07-0-UI.s1 UI-R-C4 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C4-als-a-07-0-UI 3', mRNA sequence [AW535083]	0,98	0,79	1,45
AW918231	AW918231	AW918231 EST349535 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEO16 5' end, mRNA sequence [AW918231]	0,79	0,86	1,25
AY383660	AY383660	Rattus norvegicus LRRGT00005 mRNA, complete cds. [AY383660]	0,97	1,06	1,27
Bbx_predicted	XM_221497	PREDICTED: Rattus norvegicus bobby sox homolog (Drosophila) (predicted) (Bbx_predicted), mRNA [XM_221497]	0,95	0,90	1,26
BC090353	BC090353	Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7313591. [BC090353]	0,97	0,83	1,26
BE098727	BE098727	BE098727 UI-R-BJ1-atd-c-03-0-UI.s1 UI-R-BJ1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ1-atd-c-03-0-UI 3', mRNA sequence [BE098727]	1,27	0,63	1,33
Bf	NM_212466	Rattus norvegicus B-factor, properdin (Bf), mRNA [NM_212466]	1,01	0,87	1,28
BF289376	BF289376	BF289376 EST453967 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIHE68, mRNA sequence [BF289376]	1,06	0,86	1,24
BF407382	BF407382	BF407382 UI-R-BJ2-bqd-d-06-0-UI.s1 UI-R-BJ2 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ2-bqd-d-06-0-UI 3', mRNA sequence [BF407382]	1,06	0,83	1,48
BF542359	BF542359	BF542359 UI-R-C3-sf-g-04-0-UI.r1 UI-R-C3 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C3-sf-g-04-0-UI 5', mRNA sequence [BF542359]	0,91	1,18	1,27
BF558083	BF558083	BF558083 UI-R-C0-hk-b-12-0-UI.r1 UI-R-C0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C0-hk-b-12-0-UI 5', mRNA sequence [BF558083]	0,89	0,97	1,26
Bhmt	NM_030850	Rattus norvegicus betaine-homocysteine methyltransferase (Bhmt), mRNA [NM_030850]	1,19	1,34	1,40
BQ200260	BQ200260	BQ200260 UI-R-DO1-cmk-f-01-0-UI.s1 UI-R-DO1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-DO1-cmk-f-01-0-UI 3', mRNA sequence [BQ200260]	0,36	0,87	4,44
BQ206691	BQ206691	BQ206691 UI-R-DZ1-cnj-o-06-0-UI.s1 NCI_CGAP_DZ1 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7346624 3', mRNA sequence [BQ206691]	1,10	1,31	1,21
BX883046	BX883046	Rattus norvegicus chromosome 20, major histocompatibility complex, assembled from 40 BACs, strain Brown Norway (BN/ssNhsd), RT1n haplotype; segment 5/11 [BX883046]	0,99	1,09	1,36
CA506887	CA506887	CA506887 UI-R-FJ0-cqc-n-17-0-UI.s1 UI-R-FJ0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-FJ0-cqc-n-17-0-UI 3', mRNA sequence [CA506887]	0,88	0,99	1,37
CA511295	CA511295	CA511295 UI-R-FJ0-cpw-i-04-0-UI.r1 UI-R-FJ0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-FJ0-cpw-i-04-0-UI 5', mRNA sequence [CA511295]	0,76	0,98	1,30
CB545427	CB545427	CB545427 AMGNNUC:CR1-00027-F4-A Colon Rat 1 (10390) Rattus norvegicus cDNA clone cr1-00027-f4 5', mRNA sequence [CB545427]	1,04	1,00	1,23
CB546826	CB546826	CB546826 AMGNNUC:NRPI3-00126-D8-A W Rat pituitary (10477) Rattus norvegicus cDNA clone nrpi3-00126-d8 5', mRNA sequence [CB546826]	0,76	0,80	1,61
CB547615	CB547615	CB547615 AMGNNUC:NRHZ1-00016-F11-A nrhz1 (10741) Rattus norvegicus cDNA clone nrhz1-00016-f11 5', mRNA sequence [CB547615]	1,42	0,67	2,17
Chd4_predicted	XM_232354	PREDICTED: Rattus norvegicus chromodomain helicase DNA binding protein 4 (Chd4), mRNA [XM_232354]	0,96	0,98	1,32
CK470297	CK470297	AGENCOURT_17640281 NIH_MGC_237 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7114525 5', mRNA sequence [CK470297]	2,41	1,51	2,04
CK597461	CK597461	AGENCOURT_17840980 NIH_MGC_238 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7134804 5', mRNA sequence [CK597461]	0,91	0,86	1,22
Ctrb	NM_012536	Rattus norvegicus Chymotrypsinogen B (Ctrb), mRNA [NM_012536]	1,09	0,75	1,42
Cul5	NM_022683	Rattus norvegicus culin 5 (Cul5), mRNA [NM_022683]	1,04	1,11	1,33
Cyb561_predicted	XM_221030	PREDICTED: Rattus norvegicus cytochrome b-561 (predicted) (Cyb561_predicted), mRNA [XM_221030]	1,15	0,97	1,25
Cyp11a1	NM_017286	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 11, subfamily a, polypeptide 1 (Cyp11a1), mRNA [NM_017286]	1,15	0,23	1,65
Cyp17a1	NM_012753	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 17, subfamily a, polypeptide 1 (Cyp17a1), mRNA [NM_012753]	1,38	0,29	2,17
Ddx6	XM_236192	PREDICTED: Rattus norvegicus DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 6 (Ddx6), mRNA [XM_236192]	1,08	1,02	1,22
Dnajc10_predicted	XM_215751	PREDICTED: Rattus norvegicus DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily C, member 10 (predicted) (Dnajc10_predicted), mRNA [XM_215751]	1,10	0,98	1,30
Dst_predicted	XM_237042	PREDICTED: Rattus norvegicus dystonin (predicted) (Dst_predicted), mRNA [XM_237042]	1,25	0,94	1,29
Eif3s8_predicted	XM_215080	PREDICTED: Rattus norvegicus eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 8, 110kDa (predicted) (Eif3s8_predicted), mRNA [XM_215080]	0,97	0,96	1,24
ENSRNOT00000009500	ENSRNOT00000009500	Q9ESY1 (Q9ESY1) TEMO, complete [TC569158]	1,19	0,97	1,23
ENSRNOT00000019908	ENSRNOT00000019908	Unknown	1,06	1,03	1,21
ENSRNOT00000030199	ENSRNOT00000030199	Unknown	1,28	0,66	1,22
ENSRNOT00000030579	ENSRNOT00000030579	AGENCOURT_31522000 NIH_MGC_238 Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7456097 5', mRNA sequence [CV115430]	0,96	0,99	1,23
ENSRNOT00000035265	ENSRNOT00000035265	Unknown	0,83	1,26	1,39
ENSRNOT00000045593	ENSRNOT00000045593	Unknown	0,90	1,27	1,27
ENSRNOT00000046943	ENSRNOT00000046943	Q6RY99 (Q6RY99) Gamma-hydroxybutyrate receptor, partial (4%) [TC521986]	0,48	0,94	1,58
Ep400_predicted	XM_222251	PREDICTED: Rattus norvegicus E1A binding protein p400 (predicted) (Ep400_predicted), mRNA [XM_222251]	0,91	0,98	1,20

Fbxo2	NM_053511	Rattus norvegicus F-box only protein 2 (Fbxo2), mRNA [NM_053511]	0,86	0,92	1,23
Fdx1	NM_017126	Rattus norvegicus ferredoxin 1 (Fdx1), mRNA [NM_017126]	0,94	0,93	1,33
Fus_predicted	NM_001012137	Rattus norvegicus fusion (involved in t(12;16) in malignant liposarcoma) (predicted) (Fus_predicted), mRNA [NM_001012137]	0,83	0,81	1,53
Fus_predicted	XM_228776	Rattus norvegicus similar to pigpen (LOC317385), mRNA [XM_228776]	0,81	0,80	1,57
Gdnf	NM_019139	Rattus norvegicus glial cell line derived neurotrophic factor (Gdnf), mRNA [NM_019139]	1,10	0,77	1,50
Gripap1	NM_053807	Rattus norvegicus GRIP1 associated protein 1 (Gripap1), mRNA [NM_053807]	0,90	0,87	1,36
Hbxap_predicted	XM_218939	PREDICTED: Rattus norvegicus hepatitis B virus x associated protein (predicted) (Hbxap_predicted), mRNA [XM_218939]	1,30	1,08	1,45
Helic1_predicted	XM_228345	PREDICTED: Rattus norvegicus helicase, ATP binding 1 (predicted) (Helic1_predicted), mRNA [XM_228345]	0,82	1,27	1,30
Hk1	NM_012734	Rattus norvegicus hexokinase 1 (Hk1), mRNA [NM_012734]	0,87	0,87	1,23
Hnrpa3	NM_198132	Rattus norvegicus heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3 (Hnrpa3), mRNA [NM_198132]	1,20	0,95	1,37
Hsd3b1_predicted	NM_001007719	Rattus norvegicus hydroxysteroid dehydrogenase-1, delta<5>->3-beta (predicted) (Hsd3b1_predicted), mRNA [NM_001007719]	1,26	1,21	1,26
Hspd1	NM_022229	Rattus norvegicus heat shock protein 1 (chaperonin) (Hspd1), mRNA [NM_022229]	0,91	0,90	1,51
Hspd1	NM_022229	Rattus norvegicus heat shock protein 1 (chaperonin) (Hspd1), mRNA [NM_022229]	0,91	0,94	1,48
Hspd1	NM_022229	Rattus norvegicus heat shock protein 1 (chaperonin) (Hspd1), mRNA [NM_022229]	0,85	0,96	1,27
Ifnar1_predicted	XM_213649	PREDICTED: Rattus norvegicus interferon (alpha and beta) receptor 1 (predicted) (Ifnar1_predicted), mRNA [XM_213649]	0,95	1,09	1,23
Igsf4d_predicted	XM_340958	PREDICTED: Rattus norvegicus immunoglobulin superfamily, member 4 (predicted) (Igsf4d_predicted), mRNA [XM_340958]	0,86	1,15	1,28
Il17re	NM_001004091	Rattus norvegicus similar to interleukin 17 receptor E isoform 1 (Il17re), mRNA [NM_001004091]	1,01	1,63	1,82
Il24	NM_133311	Rattus norvegicus interleukin 24 (Il24), mRNA [NM_133311]	1,10	1,19	1,23
Immt_predicted	XM_232055	PREDICTED: Rattus norvegicus inner membrane protein, mitochondrial (predicted) (Immt_predicted), mRNA [XM_232055]	1,33	1,10	1,34
isg12(b)	XM_238467	PREDICTED: Rattus norvegicus putative ISG12(b) protein (isg12(b)), mRNA [XM_238467]	0,84	0,89	1,48
Katnal1	NM_001006956	Rattus norvegicus katanin p60 subunit A-like 1 (Katnal1), mRNA [NM_001006956]	0,89	0,94	1,25
Kntc2_predicted	XM_217489	Rattus norvegicus similar to HEC protein (LOC301701), mRNA [XM_217489]	0,98	1,33	1,44
Kua_predicted	XM_342588	PREDICTED: Rattus norvegicus Kua homolog (predicted) (Kua_predicted), mRNA [XM_342588]	1,12	1,09	1,47
LOC288398	XM_213689	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Pabpc4_predicted protein (LOC288398), mRNA [XM_213689]	1,15	1,09	1,65
LOC289614	XM_212746	Rattus norvegicus similar to Heat shock 60 kD protein 1 (LOC289614), mRNA [XM_212746]	1,00	0,96	1,47
LOC291411	XM_225706	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Potential phospholipid-transporting ATPase IIB (LOC291411), mRNA [XM_225706]	1,16	1,13	1,21
LOC292367	XM_217957	Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC292367), mRNA [XM_217957]	1,06	1,26	1,21
LOC292372	XM_217965	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC502240), mRNA [XM_217965]	1,21	1,32	1,35
LOC292372	XM_217965	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC502240), mRNA [XM_217965]	1,09	1,27	1,29
LOC292391	XM_217987	Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC292391), mRNA [XM_217987]	1,05	1,17	1,25
LOC292603	XM_212862	Rattus norvegicus similar to SH3-binding kinase (LOC292603), mRNA [XM_212862]	1,20	1,04	1,32
LOC294446	XM_215403	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Myristoylated alanine-rich C-kinase substrate (MARCKS) (ACAMP-81) (LOC294446), mRNA [XM_215403]	1,10	0,80	1,40
LOC298241	XM_233177	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CPN10-like protein (LOC298241), mRNA [XM_233177]	1,04	0,87	1,24
LOC299130	XM_238456	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 3110048E14, isoform a (LOC299130), mRNA [XM_238456]	0,91	1,08	1,22
LOC299199	XM_234416	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to YLP motif containing protein 1 (Nuclear protein ZAP3) (ZAP113) (LOC299199), mRNA [XM_234416]	0,78	1,08	1,86
LOC299339	XM_216791	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to [Mouse primary response gene B94 mRNA, 3end.], gene product (LOC299339), mRNA [XM_216791]	1,02	0,95	1,35
LOC299663	XM_234966	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4930509O22 (LOC299663), mRNA [XM_234966]	1,14	1,04	1,33
LOC302279	XM_229903	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC10646 (LOC302279), mRNA [XM_229903]	1,16	0,93	1,43
LOC302680	XM_217613	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CXORF15 (LOC302680), mRNA [XM_217613]	1,25	1,19	1,34
LOC302797	XM_229115	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 60 kDa heat shock protein, mitochondrial precursor (Hsp60) (60 kDa chaperonin) (CPN60) (Heat shock protein 60) (HSP-60) (Mitochondrial matrix protein P1) (HSP-65) (LOC302797), mRNA [XM_229115]	0,99	0,96	1,52
LOC303215	XM_220553	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Charcot-Marie-Tooth duplicated region transcript 1 (LOC303215), mRNA [XM_220553]	0,94	0,88	1,26
LOC304809	XM_239761	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to PLU1 (LOC304809), mRNA [XM_239761]	1,02	1,16	1,45
LOC304809	XM_239761	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to PLU1 (LOC304809), mRNA [XM_239761]	0,73	0,89	1,38
LOC306238	XM_224591	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA E230015L20 gene (LOC306238), mRNA [XM_224591]	1,34	1,07	1,20
LOC307057	XM_225481	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to ankyrin repeat domain 26 (LOC307057), mRNA [XM_225481]	1,08	1,08	1,43
LOC307989	XM_217645	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to actin-binding LIM protein 1 long isoform (LOC307989), mRNA [XM_217645]	1,11	0,97	1,42
LOC307989	XM_217645	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to actin-binding LIM protein 1 long isoform (LOC307989), mRNA [XM_217645]	1,18	0,91	1,29
LOC308209	XM_217999	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC308209), mRNA [XM_217999]	1,19	1,15	1,29
LOC308494	XM_238783	Rattus norvegicus similar to [Ascaris lumbricoides mRNA sequence.], gene product (LOC308494), mRNA [XM_238783]	1,08	1,01	1,27
LOC308950	XM_219278	Rattus norvegicus similar to 60 kDa heat shock protein, mitochondrial precursor (Hsp60) (60 kDa chaperonin) (CPN60) (Heat shock protein 60)	0,99	0,93	1,36

		(HSP-60) (Mitochondrial matrix protein P1) (HSP-65) (LOC308950), mRNA [XM_219278]			
LOC313741	XM_233699	Rattus norvegicus similar to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (LOC313741), mRNA [XM_233699]	1,20	0,90	1,23
LOC314670	XM_234980	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4930509Q22 (LOC314670), mRNA [XM_234980]	1,22	0,96	1,38
LOC362096	XM_342400	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to senataxin; DEAxQ-box helicase; tRNA splicing endonuclease regulator 1 (LOC362096), mRNA [XM_342400]	1,01	1,15	1,29
LOC362096	XM_342400	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to senataxin; DEAxQ-box helicase; tRNA splicing endonuclease regulator 1 (LOC362096), mRNA [XM_342400]	0,93	1,07	1,23
LOC362331	XM_342652	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein DKFZp434G156 (LOC362331), mRNA [XM_342652]	1,04	0,92	1,28
LOC363019	XM_343352	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC363019 (LOC363019), mRNA [XM_343352]	0,86	1,05	1,23
LOC363318	XM_343658	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4930555G01 (LOC363318), mRNA [XM_343658]	1,10	1,31	1,38
LOC364620	XM_344532	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4921537P18 (LOC364620), mRNA [XM_344532]	0,99	0,82	1,29
LOC365125	XM_344827	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC365125), mRNA [XM_344827]	1,09	1,33	1,33
LOC365141	XM_344837	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC365141), mRNA [XM_344837]	1,07	1,12	1,22
LOC365143	XM_344839	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC365143), mRNA [XM_344839]	1,27	1,34	1,29
LOC365146	XM_344841	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC365146), mRNA [XM_344841]	1,06	1,21	1,25
LOC365476	XM_345041	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to chromosome 10 open reading frame 79 (LOC365476), mRNA [XM_345041]	0,99	0,83	1,25
LOC365499	XM_345056	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC365499), mRNA [XM_345056]	1,08	1,26	1,25
LOC365506	XM_345061	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC365506), mRNA [XM_345061]	0,93	1,14	1,23
LOC366639	XM_345680	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Aldo-keto reductase family 1, member B8 (LOC366639), mRNA [XM_345680]	0,96	0,73	1,69
LOC368070	XM_347237	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to pinin (LOC368070), mRNA [XM_347237]	1,14	1,03	1,69
LOC368088	XM_347258	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to diacylglycerol kinase, delta 130kDa isoform 1 (LOC368088), mRNA [XM_347258]	1,18	0,94	1,24
Mesdc2_predicted	NM_001008345	Rattus norvegicus mesoderm development candidate 2 (predicted) (Mesdc2_predicted), mRNA [NM_001008345]	0,92	1,15	1,42
MGC94167	NM_001007710	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA C130099A20 (MGC94167), mRNA [NM_001007710]	0,95	0,94	1,42
MGC94167	NM_001007710	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA C130099A20 (MGC94167), mRNA [NM_001007710]	1,00	0,86	1,30
Mrpl45_predicted	XM_213446	PREDICTED: Rattus norvegicus mitochondrial ribosomal protein L45 (predicted) (Mrpl45_predicted), mRNA [XM_213446]	0,94	0,92	1,21
Myl8	K02111	Rat embryonic myosin heavy chain gene, partial 5' region, mRNA. [K02111]	0,90	1,11	1,22
Myst3_predicted	XM_225008	PREDICTED: Rattus norvegicus MYST histone acetyltransferase (monocytic leukemia) 3 (predicted) (Myst3_predicted), mRNA [XM_225008]	1,02	1,11	1,23
Ngfr	NM_012610	Rattus norvegicus nerve growth factor receptor (TNFR superfamily, member 16) (Ngfr), mRNA [NM_012610]	1,09	1,23	1,21
NM_001013130	NM_001013130	Rattus norvegicus spectrin beta 2 (Spnb2), mRNA [NM_001013130]	0,79	0,92	1,39
NM_001013155	NM_001013155	Rattus norvegicus soc-2 (suppressor of clear) homolog (C. elegans) (predicted) (Shoc2_predicted), mRNA [NM_001013155]	0,84	1,23	1,26
NM_001014001	NM_001014001	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4933411K20 (predicted) (RGD1307325_predicted), mRNA [NM_001014001]	0,98	1,20	1,63
NM_001014085	NM_001014085	Rattus norvegicus repressor of RNA polymerase III transcription MAF1 (Maf1), mRNA [NM_001014085]	0,71	0,75	1,48
NM_001014231	NM_001014231	Rattus norvegicus similar to expressed sequence AA408877 (predicted) (RGD1308513_predicted), mRNA [NM_001014231]	1,04	0,98	1,40
NM_001024786	NM_001024786	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein MGC38950 (predicted) (RGD1311027_predicted), mRNA [NM_001024786]	0,95	1,01	1,28
NM_001025672	NM_001025672	Rattus norvegicus paraspeckle protein 1 (predicted) (Pspc1_predicted), mRNA [NM_001025672]	1,01	1,11	1,27
Nphp1_predicted	XM_215847	PREDICTED: Rattus norvegicus nephronophthisis 1 (juvenile) (predicted) (Nphp1_predicted), mRNA [XM_215847]	0,88	0,98	1,33
Olr1234_predicted	NM_001000446	Rattus norvegicus olfactory receptor 1234 (predicted) (Olr1234_predicted), mRNA [NM_001000446]	1,48	0,88	1,21
Olr1572_predicted	XM_221921	PREDICTED: Rattus norvegicus olfactory receptor 1572 (predicted) (Olr1572_predicted), mRNA [XM_221921]	1,17	0,91	1,27
Olr1605_predicted	NM_001000088	Rattus norvegicus olfactory receptor 1605 (predicted) (Olr1605_predicted), mRNA [NM_001000088]	1,06	0,83	1,24
Olr46_predicted	NM_001001001	Rattus norvegicus olfactory receptor 46 (predicted) (Olr46_predicted), mRNA [NM_001001001]	1,24	0,89	1,43
P2rx7	NM_019256	Rattus norvegicus purinergic receptor P2X, ligand-gated ion channel, 7 (P2rx7), mRNA [NM_019256]	0,76	0,73	1,54
Pabpc2_predicted	XM_225992	PREDICTED: Rattus norvegicus poly A binding protein, cytoplasmic 2 (predicted) (Pabpc2_predicted), mRNA [XM_225992]	1,12	0,91	1,21
Pabpc2_predicted	XM_225992	PREDICTED: Rattus norvegicus poly A binding protein, cytoplasmic 2 (predicted) (Pabpc2_predicted), mRNA [XM_225992]	1,21	0,94	1,22
Pabpc4_predicted	XM_216517	PREDICTED: Rattus norvegicus poly A binding protein, cytoplasmic 4 (predicted) (Pabpc4_predicted), mRNA [XM_216517]	1,09	0,83	1,23
Pdap1	NM_022595	Rattus norvegicus PDGFA associated protein 1 (Pdap1), mRNA [NM_022595]	0,93	1,22	1,32
Pdgfa	NM_012801	Rattus norvegicus platelet derived growth factor, alpha (Pdgfa), mRNA [NM_012801]	1,08	0,88	1,21
Pdyn	NM_019374	Rattus norvegicus prodynorphin (Pdyn), mRNA [NM_019374]	1,19	1,38	2,05
Pip5k1b_predicted	AY724476	Rattus norvegicus clone UI-R-FJ0-cpu-i-10-0-UI unknown mRNA. [AY724476]	0,90	0,93	1,24
Piwil1_predicted	XM_344105	PREDICTED: Rattus norvegicus piwi like homolog 1 (Drosophila) (predicted) (Piwil1_predicted), mRNA [XM_344105]	0,74	0,86	1,36
Ppp1r12a	NM_053890	Rattus norvegicus protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 12A (Ppp1r12a), mRNA [NM_053890]	1,05	1,21	1,23
Prkab2	NM_022627	Rattus norvegicus protein kinase, AMP-activated, beta 2 non-catalytic subunit (Prkab2), mRNA [NM_022627]	1,03	1,18	1,31
Qki	XM_574316	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to QUAKING isoform 6 (LOC499022), mRNA [XM_574316]	0,99	1,04	1,21

RGD:1303089	NM_001004080	Rattus norvegicus gelsolin (Gsn), mRNA [NM_001004080]	0,96	0,92	1,33
RGD:1303257	NM_201416	Rattus norvegicus conserved nuclear protein Nhn1 (Nhn1), mRNA [NM_201416]	0,88	0,95	1,27
RGD:708447	NM_173132	Rattus norvegicus testin (LOC286916), mRNA [NM_173132]	1,13	1,85	2,18
RGD:735098	NM_199109	Rattus norvegicus transporter (LOC314323), mRNA [NM_199109]	1,16	0,96	1,27
RGD1308397_predicted	XM_217691	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to DNA segment, Chr 3, ERATO Doi 250, expressed (predicted) (LOC308017), mRNA [XM_217691]	1,04	1,21	1,28
RGD1309308_predicted	XM_232850	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1810074P20 (predicted) (LOC313115), mRNA [XM_232850]	1,04	1,05	1,28
RGD1310067_predicted	XM_221048	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to E3 ubiquitin ligase SMURF2 (predicted) (LOC303614), mRNA [XM_221048]	1,29	0,88	1,56
RGD1310127_predicted	XM_341935	Rattus norvegicus similar to cDNA sequence BC017158 (LOC361654), mRNA [XM_341935]	0,96	1,14	1,42
RGD1310165_predicted	XM_342416	Rattus norvegicus LOC362113 (LOC362113), mRNA [XM_342416]	0,99	0,74	1,52
RGD1311294_predicted	XM_342147	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Hypothetical protein C6orf60 (predicted) (LOC361853), mRNA [XM_342147]	1,15	1,04	1,26
RGD1311559_predicted	XM_235398	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC315055 (predicted) (LOC315055), mRNA [XM_235398]	1,19	1,18	1,56
RGD1311563_predicted	XM_343499	Rattus norvegicus similar to Oligosaccharyl transferase 3 CG7748-PA (LOC363160), mRNA [XM_343499]	0,92	0,87	1,21
RGD1311657_predicted	XM_226078	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 2610304F09 (predicted) (LOC307527), mRNA [XM_226078]	0,90	0,93	1,25
RGD1311787_predicted	XM_216460	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to KIAA1915 protein (predicted) (LOC298247), mRNA [XM_216460]	0,98	0,85	1,23
RGD1311920_predicted	XM_223651	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 9130023F12 gene (predicted) (LOC305544), mRNA [XM_223651]	0,72	1,00	1,22
Rnf24_predicted	XM_342522	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger protein 24 (predicted) (Rnf24_predicted), mRNA [XM_342522]	1,41	0,81	1,70
Rnf41_predicted	NM_001012195	Rattus norvegicus ring finger protein 41 (predicted) (Rnf41_predicted), mRNA [NM_001012195]	0,96	0,82	1,21
Rtn4rl2	NM_181380	Rattus norvegicus reticulon 4 receptor-like 2 (Rtn4rl2), mRNA [NM_181380]	1,16	0,83	1,54
Sbno1_predicted	XM_222152	PREDICTED: Rattus norvegicus sno, strawberry notch homolog 1 (Drosophila) (predicted) (Sbno1_predicted), mRNA [XM_222152]	0,86	1,21	1,28
Scarb1	NM_031541	Rattus norvegicus scavenger receptor class B, member 1 (Scarb1), mRNA [NM_031541]	0,82	0,75	2,03
Scarb1	NM_031541	Rattus norvegicus scavenger receptor class B, member 1 (Scarb1), mRNA [NM_031541]	1,05	0,32	3,17
Sfrs5	NM_019257	Rattus norvegicus splicing factor, arginine/serine-rich 5 (Sfrs5), mRNA [NM_019257]	0,82	1,14	1,26
Sgol2_predicted	XM_237176	PREDICTED: Rattus norvegicus shugoshin-like 2 (S. pombe) (predicted) (Sgol2_predicted), mRNA [XM_237176]	1,28	0,69	1,66
Slc39a10_predicted	XM_343567	PREDICTED: Rattus norvegicus solute carrier family 39 (zinc transporter), member 10 (predicted) (Slc39a10_predicted), mRNA [XM_343567]	0,85	0,96	1,22
Snpc5_predicted	XM_343406	Rattus norvegicus similar to 2010103A03Rik protein (LOC363075), mRNA [XM_343406]	1,17	1,07	1,37
Snrp70_predicted	XM_341857	PREDICTED: Rattus norvegicus U1 small nuclear ribonucleoprotein polypeptide A (predicted) (Snrp70_predicted), mRNA [XM_341857]	0,87	0,94	1,28
Sox9	BE119829	BE119829 UI-R-CA0-ban-e-05-0-UI.s1 UI-R-CA0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CA0-ban-e-05-0-UI 3', mRNA sequence [BE119829]	1,04	0,84	1,22
Spdef_predicted	XM_215359	Rattus norvegicus similar to Prostate specific transcription factor ets (LOC294293), mRNA [XM_215359]	1,32	0,95	1,65
Spock2_predicted	XM_342134	PREDICTED: Rattus norvegicus sparce/osteonectin, cwcv and kazal-like domains proteoglycan 2 (predicted) (Spock2_predicted), mRNA [XM_342134]	1,14	1,00	1,28
Star	NM_031558	Rattus norvegicus steroidogenic acute regulatory protein (Star), mRNA [NM_031558]	1,18	0,47	1,94
Stk36_predicted	XM_217435	PREDICTED: Rattus norvegicus serine/threonine kinase 36 (fused homolog, Drosophila) (predicted) (Stk36_predicted), mRNA [XM_217435]	0,89	0,96	1,62
Sv2b	NM_057207	Rattus norvegicus synaptic vesicle glycoprotein 2b (Sv2b), mRNA [NM_057207]	0,94	0,59	1,21
Svs5	NM_133516	Rattus norvegicus seminal vesicle secretion 5 (Svs5), mRNA [NM_133516]	0,87	0,69	2,07
Taf3_predicted	XM_225559	PREDICTED: Rattus norvegicus TAF3 RNA polymerase II, TATA box binding protein (TBP)-associated factor (predicted) (Taf3_predicted), mRNA [XM_225559]	1,04	1,09	1,36
Tbc1d12_predicted	XM_220062	PREDICTED: Rattus norvegicus TBC1D12: TBC1 domain family, member 12 (predicted) (Tbc1d12_predicted), mRNA [XM_220062]	0,91	0,94	1,25
TC521066	TC521066	Q49846 (Q49846) B2235_C3_243 (Possible conserved membrane protein), partial (7%) [TC521066]	0,82	0,81	1,43
TC522093	TC522093	Unknown	1,28	0,88	1,24
TC524212	TC524212	Unknown	1,10	0,98	1,29
TC524522	TC524522	NNS1_HUMAN (Q8WY41) Nanos homolog 1 (NOS-1), partial (5%) [TC524522]	0,85	0,83	1,45
TC528843	TC528843	Unknown	1,06	1,22	1,63
TC529338	TC529338	Unknown	1,12	1,11	1,42
TC535876	TC535876	Q8K4F7 (Q8K4F7) Histidine triad protein member 5, complete [TC535876]	0,87	1,04	1,45
TC539442	TC539442	Q8U5W7 (Q8U5W7) AGR_pAT_154p, partial (5%) [TC539442]	0,70	0,97	1,22
TC542560	TC542560	Q72HZ8 (Q72HZ8) Carboxypeptidase G2 , partial (5%) [TC542560]	1,24	0,98	1,44
TC543197	TC543197	Q9JJI7 (Q9JJI7) Membrane bound serine protease (Membrane bound arginine specific serine protease), partial (9%) [TC543197]	1,09	1,22	1,26
TC544026	TC544026	Q8K1C7 (Q8K1C7) Solute carrier family 16 (Monocarboxylic acid transporters), member 14, partial (10%) [TC544026]	1,09	1,18	1,33
TC551333	TC551333	MMU34291 amyloid precursor-like protein 2 {Mus musculus;} , partial (71%) [TC551333]	0,96	0,96	1,70
TC555148	TC555148	BC017247 FUBP1 protein {Homo sapiens;} , partial (67%) [TC555148]	1,38	0,81	1,41
TC556180	TC556180	Unknown	0,94	1,12	1,29
TC556312	TC556312	Q9DVV0 (Q9DVV0) PxORF73 peptide, partial (16%) [TC556312]	0,88	0,82	1,28

TC556498	TC556498	Q80WG6 (Q80WG6) UROP11-110, partial (10%) [TC556498]	0,98	1,03	1,21
TC557829	TC557829	Unknown	0,87	1,01	1,23
TC558449	TC558449	Unknown	0,92	0,87	1,82
TC558648	TC558648	Q9D614 (Q9D614) Mus musculus 0 day neonate head cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:4833418L03 product:SYNTAXIN 17 homolog, partial (11%) [TC558648]	1,10	1,48	1,48
TC560644	TC560644	Unknown	1,11	0,86	1,47
TC561516	TC561516	Unknown	1,14	1,15	1,83
TC567098	TC567098	Q8YRD7 (Q8YRD7) Two-component sensor histidine kinase, partial (3%) [TC567098]	0,66	1,36	2,20
Tcf20	XM_345861	PREDICTED: Rattus norvegicus transcription factor 20 (Tcf20), mRNA [XM_345861]	0,66	0,91	1,20
Tfdp2_predicted	XM_217232	PREDICTED: Rattus norvegicus transcription factor Dp-2 (E2F dimerization partner 2) (predicted) (Tfdp2_predicted), mRNA [XM_217232]	0,96	1,13	1,77
Thrap3_predicted	NM_001009693	Rattus norvegicus thyroid hormone receptor associated protein 3 (predicted) (Thrap3_predicted), mRNA [NM_001009693]	0,84	0,91	1,22
Tram1	NM_001007701	Rattus norvegicus translocating chain-associating membrane protein (Tram1), mRNA [NM_001007701]	1,05	1,16	1,22
Trit1_predicted	XM_342905	PREDICTED: Rattus norvegicus tRNA isopentenyltransferase 1 (predicted) (Trit1_predicted), mRNA [XM_342905]	0,99	1,05	1,24
Ttk_predicted	XM_236477	PREDICTED: Rattus norvegicus Ttk protein kinase (predicted) (Ttk_predicted), mRNA [XM_236477]	1,21	1,19	1,26
Ubtf	XM_340913	PREDICTED: Rattus norvegicus upstream binding transcription factor, RNA polymerase I (Ubtf), mRNA [XM_340913]	0,72	0,96	1,32
Ubx2_predicted	NM_001012025	Rattus norvegicus UBX domain containing 2 (predicted) (Ubx2_predicted), mRNA [NM_001012025]	1,23	1,01	1,66
Ucp1	NM_012682	Rattus norvegicus uncoupling protein 1 (Ucp1), mRNA [NM_012682]	0,89	1,12	1,27
Unr	NM_054006	Rattus norvegicus upstream of NRAS (Unr), mRNA [NM_054006]	1,08	0,98	1,22
Unr	NM_054006	Rattus norvegicus upstream of NRAS (Unr), mRNA [NM_054006]	1,01	0,84	1,22
Usp42_predicted	XM_237865	PREDICTED: Rattus norvegicus ubiquitin specific protease 42 (predicted) (Usp42_predicted), mRNA [XM_237865]	0,92	1,13	1,33
XM_217933	XM_217933	Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC292348), mRNA [XM_217933]	1,15	1,23	1,37
XM_230011	XM_230011	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 4921537P18 (LOC311106), mRNA [XM_230011]	0,86	1,14	1,64
XM_235109	XM_235109	Rattus norvegicus similar to putative C6.1A-like protease (LOC299769), mRNA [XM_235109]	0,77	1,29	1,33
XM_236652	XM_236652	Rattus norvegicus similar to serine protease-like 1 (LOC316016), mRNA [XM_236652]	1,01	0,91	1,24
XM_342380	XM_342380	Rattus norvegicus similar to Endoplasmic reticulum mannosyl-oligosaccharide 1,2-alpha-mannosidase (ER alpha-1,2-mannosidase) (Mannosidase alpha class 1B member 1) (Man9GlcNAc2-specific processing alpha-mannosidase) (LOC362079), mRNA [XM_342380]	1,32	0,93	1,44
XM_342766	XM_342766	Rattus norvegicus similar to Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (38 kDa BFA-dependent ADP-ribosylation substrate) (BARS-38) (LOC362444), mRNA [XM_342766]	1,30	0,91	1,24
XM_573823	XM_573823	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to A-kinase anchor protein 11 (Protein kinase A anchoring protein 11) (PRKA11) (A kinase anchor protein 220 kDa) (AKAP 220) (hAKAP220) (LOC498549), mRNA [XM_573823]	0,90	1,09	1,49
XM_574906	XM_574906	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Eif4g1 protein (LOC499581), mRNA [XM_574906]	0,77	1,08	1,66
XM_574918	XM_574918	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Hnrpa3 protein (LOC499592), mRNA [XM_574918]	1,08	0,97	1,36
XM_574957	XM_574957	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Aldose reductase-related protein 2 (AR) (Aldehyde reductase) (Fibroblast growth factor regulated protein) (FR-1 protein) (LOC499634), mRNA [XM_574957]	0,82	0,82	1,62
XM_575356	XM_575356	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to A-kinase anchor protein 9 (LOC500003), mRNA [XM_575356]	1,17	0,88	1,52
XM_575607	XM_575607	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to cDNA sequence BC022133 (LOC362399), mRNA [XM_575607]	1,43	0,84	1,38
XM_575707	XM_575707	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to C030030A07Rik protein (LOC500354), mRNA [XM_575707]	0,85	0,91	1,38
XM_575844	XM_575844	PREDICTED: Rattus norvegicus CDK5 activator-binding protein (Cdk5rap2), mRNA [XM_575844]	0,91	1,07	1,74
XM_575945	XM_575945	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2900090M10 (LOC500577), mRNA [XM_575945]	1,00	0,86	1,23
XM_576083	XM_576083	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to C14orf145 protein (LOC500701), mRNA [XM_576083]	1,08	1,07	1,20
XM_577709	XM_577709	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC502250), mRNA [XM_577709]	1,07	1,19	1,28
XM_577710	XM_577710	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC502251), mRNA [XM_577710]	1,29	1,18	1,35
XM_577710	XM_577710	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC502251), mRNA [XM_577710]	0,99	1,14	1,20
XM_577734	XM_577734	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC502273), mRNA [XM_577734]	1,32	1,34	1,33
XM_577736	XM_577736	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC502275), mRNA [XM_577736]	1,01	1,13	1,29
XM_577878	XM_577878	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC502398), mRNA [XM_577878]	1,08	1,23	1,32
XM_578861	XM_578861	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to putative protein kinase (LOC503327), mRNA [XM_578861]	1,31	1,17	1,25
Yt521	NM_133423	Rattus norvegicus splicing factor YT521-B (Yt521), mRNA [NM_133423]	1,18	1,11	1,77
Zfp462_predicted	XM_232936	PREDICTED: Rattus norvegicus zinc finger protein 462 (predicted) (Zfp462_predicted), mRNA [XM_232936]	0,94	0,94	1,22
Zfp60_predicted	XM_218369	Rattus norvegicus similar to Zinc finger protein 60 (Zfp-60) (Zinc finger protein Mfg-3) (LOC292740), mRNA [XM_218369]	1,38	0,73	1,33
Zfp91	AF003187	Rattus norvegicus cocaine attenuated zinc-finger protein mRNA, partial cds. [AF003187]	0,97	1,11	1,37

4.6 Liste des transcrits sous-accumulés à 48 h

Gene Name	Systematic Name	Description	Ratio 8h	Ratio 24h	Ratio 48h
A_44_P241230	A_44_P241230	Unknown	1,01	1,02	0,81
A_44_P255965	A_44_P255965	Unknown	1,10	0,90	0,79
A_44_P651992	A_44_P651992	Unknown	0,86	0,93	0,80
A_44_P791333	A_44_P791333	Unknown	0,68	0,69	0,67
A_44_P821402	A_44_P821402	Unknown	1,02	1,02	0,65
A_44_P944159	A_44_P944159	Unknown	0,95	0,73	0,78
A_44_P959647	A_44_P959647	Unknown	1,09	0,94	0,80
AA957447	AA957447	AA957447 UI-R-E1-fy-h-05-0-UI.s1 UI-R-E1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-E1-fy-h-05-0-UI 3', mRNA sequence [AA957447]	0,90	0,80	0,79
AA997189	AA997189	AA997189 UI-R-C0-hs-h-02-0-UI.s1 UI-R-C0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C0-hs-h-02-0-UI 3', mRNA sequence [AA997189]	1,13	0,89	0,81
Acaa2	NM_130433	Rattus norvegicus acetyl-Coenzyme A acyltransferase 2 (mitochondrial 3-oxoacyl-Coenzyme A thiolase) (Acaa2), mRNA [NM_130433]	0,88	0,67	0,66
Ada	NM_130399	Rattus norvegicus adenosine deaminase (Ada), mRNA [NM_130399]	0,83	0,79	0,75
Ada	NM_130399	Rattus norvegicus adenosine deaminase (Ada), mRNA [NM_130399]	0,90	0,73	0,81
Adh1	NM_019286	Rattus norvegicus alcohol dehydrogenase 1 (Adh1), mRNA [NM_019286]	1,08	0,34	0,47
Al102989	Al102989	Al102989 EST212278 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone REMBV81 3' end, mRNA sequence [Al102989]	1,22	0,82	0,61
Al229721	Al229721	Al229721 EST226416 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone REMCL08 3' end, mRNA sequence [Al229721]	1,09	0,94	0,82
Al231702	Al231702	Al231702 EST228390 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone REMDN77 3' end, mRNA sequence [Al231702]	1,08	1,17	0,71
Al234817	Al234817	Al234817 EST231379 Normalized rat ovary, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone ROVC113 3' end, mRNA sequence [Al234817]	1,03	0,63	0,38
AJ003232	AJ003232	RNAJ3232 Rattus norvegicus mRNA for MHC class II RT1-D beta1 chain haplotype k [AJ003232]	0,64	0,96	0,62
Aldoc	NM_012497	Rattus norvegicus aldolase C, fructose-biphosphate (Aldoc), mRNA [NM_012497]	0,75	0,56	0,55
Alpl	NM_013059	Rattus norvegicus alkaline phosphatase, tissue-nonspecific (Alpl), mRNA [NM_013059]	0,84	0,83	0,67
Anxa2	NM_019905	Rattus norvegicus annexin A2 (Anxa2), mRNA [NM_019905]	0,98	0,60	0,76
Apod	NM_012777	Rattus norvegicus apolipoprotein D (Apod), mRNA [NM_012777]	1,05	0,89	0,67
AW141791	AW141791	AW141791 EST291884 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGICG77 5' end similar to NAD-dependent methylenetetrahydrofolate dehydrogenase, mRNA sequence [AW141791]	1,10	0,72	0,68
AW143134	AW143134	AW143134 EST293430 Normalized rat brain, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBE30 5' end, mRNA sequence [AW143134]	1,10	0,93	0,69
AW143475	AW143475	AW143475 EST293875 Normalized rat embryo, Bento Soares Rattus sp. cDNA clone RGIBV51 5' end, mRNA sequence [AW143475]	1,00	0,87	0,81
AW917512	AW917512	AW917512 EST348816 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEE74 5' end, mRNA sequence [AW917512]	0,92	0,46	0,68
AW917623	AW917623	AW917623 EST348927 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEG15 5' end, mRNA sequence [AW917623]	0,96	0,87	0,70
AW917764	AW917764	AW917764 EST349068 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEH67 5' end, mRNA sequence [AW917764]	1,08	0,68	0,81
AW918168	AW918168	AW918168 EST349472 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIEN33 5' end, mRNA sequence [AW918168]	1,13	1,77	0,78
AW921026	AW921026	AW921026 EST352317 Rat gene index, normalized rat, norvegicus, Bento Soares Rattus norvegicus cDNA clone RGIHM27 5' end, mRNA sequence [AW921026]	0,92	0,75	0,78
B2m	NM_012512	Rattus norvegicus beta-2 microglobulin (B2m), mRNA [NM_012512]	0,95	0,92	0,76
B2m	NM_012512	Rattus norvegicus beta-2 microglobulin (B2m), mRNA [NM_012512]	1,25	0,93	0,78
B2m	CF111193	Shultzomica04444 Rat lung airway and parenchyma cDNA libraries Rattus norvegicus cDNA clone Contig3937 5', mRNA sequence [CF111193]	1,04	0,92	0,76
B2m	CF111193	Shultzomica04444 Rat lung airway and parenchyma cDNA libraries Rattus norvegicus cDNA clone Contig3937 5', mRNA sequence [CF111193]	1,10	0,97	0,83
Bbs1_predicted	XM_219691	Rattus norvegicus similar to Bardet-Biedl syndrome 1 (LOC309156), mRNA [XM_219691]	1,24	0,76	0,63
BC088258	BC088258	Rattus norvegicus cDNA clone IMAGE:7375759, with apparent retained intron. [BC088258]	0,94	1,08	0,70
Bcat2	NM_022400	Rattus norvegicus branched chain aminotransferase 2, mitochondrial (Bcat2), mRNA [NM_022400]	1,05	0,67	0,68
BF286677	BF286677	BF286677 EST451268 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIFR91 5' sequence, mRNA sequence [BF286677]	1,07	1,04	0,77
BF289184	BF289184	BF289184 EST453775 Rat Gene Index, normalized rat, Rattus norvegicus cDNA Rattus norvegicus cDNA clone RGIHC06, mRNA sequence [BF289184]	0,96	1,06	0,78

BF414002	BF414002	UI-R-BJ2-bol-c-08-0-UI.s1 UI-R-BJ2 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ2-bol-c-08-0-UI 3', mRNA sequence [BF414002]	0,95	1,28	0,71
BF414002	BF414002	UI-R-BJ2-bol-c-08-0-UI.s1 UI-R-BJ2 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BJ2-bol-c-08-0-UI 3', mRNA sequence [BF414002]	1,20	1,05	0,48
BF548067	BF548067	BF548067 UI-R-A0-ad-f-05-0-UI.r1 UI-R-A0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A0-ad-f-05-0-UI 5', mRNA sequence [BF548067]	1,18	0,82	0,80
BF555796	BF555796	BF555796 UI-R-A1-ei-h-10-0-UI.r1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-ei-h-10-0-UI 5', mRNA sequence [BF555796]	1,13	1,08	0,73
BF556125	BF556125	BF556125 UI-R-A1-eh-a-09-0-UI.r1 UI-R-A1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-A1-eh-a-09-0-UI 5', mRNA sequence [BF556125]	0,83	0,74	0,77
BF557949	BF557949	BF557949 UI-R-C0-hg-a-04-0-UI.r1 UI-R-C0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-C0-hg-a-04-0-UI 5', mRNA sequence [BF557949]	1,21	0,81	0,63
BG665929	BG665929	BG665929 DRACKE03 Rat DRG Library Rattus norvegicus cDNA clone DRACKE03 5', mRNA sequence [BG665929]	1,07	0,74	0,48
BI296191	BI296191	BI296191 UI-R-DK0-cex-d-08-0-UI.s1 UI-R-DK0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-DK0-cex-d-08-0-UI 3', mRNA sequence [BI296191]	0,97	1,01	0,80
BI395655	BI395655	BI395655 EST531526 Rat gene index, normalized rat, norvegicus Rattus norvegicus cDNA clone RGIBT82 5' end, mRNA sequence [BI395655]	0,76	0,51	0,65
BI395793	BI395793	BI395793 EST531664 Rat gene index, normalized rat, norvegicus Rattus norvegicus cDNA clone RGICP08 5' end, mRNA sequence [BI395793]	0,53	1,09	0,15
BM378056	BM378056	BM378056 94 Rat liver subtractive library Rattus norvegicus cDNA 5', mRNA sequence [BM378056]	0,91	1,13	0,72
BM386513	BM386513	BM386513 UI-R-CN1-cjg-o-03-0-UI.s1 UI-R-CN1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CN1-cjg-o-03-0-UI 3', mRNA sequence [BM386513]	1,04	0,93	0,80
BM390457	BM390457	BM390457 UI-R-CN1-cjq-f-12-0-UI.s1 UI-R-CN1 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-CN1-cjq-f-12-0-UI 3', mRNA sequence [BM390457]	1,21	1,37	0,80
Bpnt1	NM_171990	Rattus norvegicus 3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase (Bpnt1), mRNA [NM_171990]	0,97	1,08	0,75
Bzrp	NM_012515	Rattus norvegicus benzodiazepin receptor (Bzrp), mRNA [NM_012515]	0,94	0,60	0,45
C1qa_predicted	NM_001008515	Rattus norvegicus complement component 1, q subcomponent, alpha polypeptide (predicted) (C1qa_predicted), mRNA [NM_001008515]	0,96	0,81	0,76
Calb2	NM_053988	Rattus norvegicus calbindin 2 (Calb2), mRNA [NM_053988]	0,96	1,08	0,70
CB545020	CB545020	CB545020 AMGNNUC:NRHY5-00159-F10-A W Rat hypothalamus (10471) Rattus norvegicus cDNA clone nrhy5-00159-f10 5', mRNA sequence [CB545020]	0,84	1,15	0,83
Ccl17	NM_057151	Rattus norvegicus small inducible cytokine subfamily A (Cys-Cys), member 17 (Ccl17), mRNA [NM_057151]	0,79	0,58	0,75
Ccng1	NM_012923	Rattus norvegicus cyclin G1 (Ccng1), mRNA [NM_012923]	0,79	0,85	0,81
Cd164i1_predicted	XM_238151	PREDICTED: Rattus norvegicus CD164 sialomucin-like 1 (predicted) (Cd164i1_predicted), mRNA [XM_238151]	0,86	0,85	0,83
Cd36	NM_031561	Rattus norvegicus cd36 antigen (Cd36), mRNA [NM_031561]	0,99	0,84	0,68
Cd52	NM_053983	Rattus norvegicus CD52 antigen (Cd52), mRNA [NM_053983]	1,46	1,06	0,53
Ces3	NM_133295	Rattus norvegicus carboxylesterase 3 (Ces3), mRNA [NM_133295]	1,11	0,79	0,60
Chd1l_predicted	XM_227510	PREDICTED: Rattus norvegicus chromodomain helicase DNA binding protein 1-like (predicted) (Chd1l_predicted), mRNA [XM_227510]	0,95	0,84	0,74
Cml5	AF187100	Rattus norvegicus putative N-acetyltransferase CML5 (Cml5) mRNA, partial cds. [AF187100]	0,68	0,28	0,59
Col1a2	NM_053356	Rattus norvegicus procollagen, type I, alpha 2 (Col1a2), mRNA [NM_053356]	0,85	0,81	0,73
Col3a1	NM_032085	Rattus norvegicus collagen, type III, alpha 1 (Col3a1), mRNA [NM_032085]	1,18	0,84	0,75
Col4a1_predicted	XM_214400	PREDICTED: Rattus norvegicus procollagen, type IV, alpha 1 (predicted) (Col4a1_predicted), mRNA [XM_214400]	1,03	0,85	0,75
Crot	NM_031987	Rattus norvegicus carnitine O-octanoyltransferase (Crot), mRNA [NM_031987]	1,11	0,75	0,80
Csrp1	NM_017148	Rattus norvegicus cysteine and glycine-rich protein 1 (Csrp1), mRNA [NM_017148]	0,86	0,64	0,55
Ctsh	NM_012939	Rattus norvegicus cathepsin H (Ctsh), mRNA [NM_012939]	1,12	0,72	0,62
Ctsk	NM_031560	Rattus norvegicus cathepsin K (Ctsk), mRNA [NM_031560]	0,89	0,93	0,82
Cxcl12	NM_022177	Rattus norvegicus chemokine (C-X-C motif) ligand 12 (Cxcl12), mRNA [NM_022177]	1,06	0,49	0,58
Cyp1b1	NM_012940	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 1, subfamily b, polypeptide 1 (Cyp1b1), mRNA [NM_012940]	1,17	0,45	0,79
Cyp27a1	NM_178847	Rattus norvegicus cytochrome P450, family 27, subfamily a, polypeptide 1 (Cyp27a1), mRNA [NM_178847]	1,10	1,10	0,81
Dbccr1	NM_080482	Rattus norvegicus deleted in bladder cancer chromosome region candidate 1 (human) (Dbccr1), mRNA [NM_080482]	0,67	1,09	0,65
Dbi	NM_031853	Rattus norvegicus diazepam binding inhibitor (Dbi), mRNA [NM_031853]	0,99	0,90	0,76
Dci	NM_017306	Rattus norvegicus dodecenoyl-coenzyme A delta isomerase (Dci), mRNA [NM_017306]	0,81	0,80	0,77
Dcir3	XM_342752	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 3110037K17 (LOC362431), mRNA [XM_342752]	0,80	0,88	0,82
Decr1	NM_057197	Rattus norvegicus 2,4-dienoyl CoA reductase 1, mitochondrial (Decr1), mRNA [NM_057197]	0,92	0,77	0,58
Dnase1	NM_013097	Rattus norvegicus deoxyribonuclease I (Dnase1), mRNA [NM_013097]	0,93	1,05	0,81
Dncic1	NM_019234	Rattus norvegicus dynein, cytoplasmic, intermediate chain 1 (Dncic1), mRNA [NM_019234]	0,95	0,88	0,79
Dpep1	NM_053591	Rattus norvegicus dipeptidase 1 (renal) (Dpep1), mRNA [NM_053591]	0,89	0,95	0,70
Echs1	NM_078623	Rattus norvegicus enoyl Coenzyme A hydratase, short chain, 1, mitochondrial (Echs1), mRNA [NM_078623]	1,10	0,78	0,79
ENSRNOT00000010349	ENSRNOT00000010349	UI-R-BO0-agm-b-03-0-UI.r1 UI-R-BO0 Rattus norvegicus cDNA clone UI-R-BO0-agm-b-03-0-UI 5', mRNA sequence [BF566516]	1,17	1,02	0,47
ENSRNOT00000025591	ENSRNOT00000025591	Unknown	1,04	0,89	0,78
ENSRNOT00000047553	ENSRNOT00000047553	Unknown	1,11	1,05	0,56
Epha3	NM_031564	Rattus norvegicus Eph receptor A3 (Epha3), mRNA [NM_031564]	1,14	1,03	0,63
Es2	NM_017004	Rattus norvegicus esterase 2 (Es2), mRNA [NM_017004]	0,51	1,31	0,49
Fabp3	NM_024162	Rattus norvegicus fatty acid binding protein 3 (Fabp3), mRNA [NM_024162]	1,21	0,53	0,51

Fez1	NM_031066	Rattus norvegicus fusculation and elongation protein zeta 1 (zygin I) (Fez1), mRNA [NM_031066]	0,91	0,83	0,83
Fh1	NM_017005	Rattus norvegicus fumarate hydratase 1 (Fh1), mRNA [NM_017005]	0,91	0,84	0,83
Fkbp5_predicted	NM_001012174	Rattus norvegicus FK506 binding protein 5 (predicted) (Fkbp5_predicted), mRNA [NM_001012174]	1,14	0,83	0,82
Fmo2	NM_144737	Rattus norvegicus flavin containing monooxygenase 2 (Fmo2), mRNA [NM_144737]	1,45	0,97	0,82
Fmo3	NM_053433	Rattus norvegicus flavin containing monooxygenase 3 (Fmo3), mRNA [NM_053433]	1,30	0,80	0,72
G0s2_predicted	NM_001009632	Rattus norvegicus G0/G1 switch gene 2 (predicted) (G0s2_predicted), mRNA [NM_001009632]	1,11	0,46	0,38
Gadd45g_predicted	XM_237999	PREDICTED: Rattus norvegicus growth arrest and DNA-damage-inducible 45 gamma (predicted) (Gadd45g_predicted), mRNA [XM_237999]	0,55	0,61	0,70
Gbp2	NM_133624	Rattus norvegicus guanylate nucleotide binding protein 2 (Gbp2), mRNA [NM_133624]	0,79	0,79	0,80
Gja1	NM_012567	Rattus norvegicus gap junction membrane channel protein alpha 1 (Gja1), mRNA [NM_012567]	0,85	0,83	0,80
Glul	BC072694	Rattus norvegicus glutamine synthetase 1, mRNA (cDNA clone MGC:91746 IMAGE:7103110), complete cds [BC072694]	1,02	0,56	0,71
Gng11	NM_022396	Rattus norvegicus guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma 11 (Gng11), mRNA [NM_022396]	1,04	1,06	0,81
Gsta5	NM_031509	Rattus norvegicus glutathione S-transferase A5 (Gsta5), mRNA [NM_031509]	0,98	0,67	0,62
Gstm1	NM_017014	Rattus norvegicus glutathione S-transferase, mu 1 (Gstm1), mRNA [NM_017014]	1,14	0,81	0,75
Gucy1a2	NM_023956	Rattus norvegicus guanylate cyclase 1, soluble, alpha 2 (Gucy1a2), mRNA [NM_023956]	0,72	1,07	0,79
Gucy1a2	NM_023956	Rattus norvegicus guanylate cyclase 1, soluble, alpha 2 (Gucy1a2), mRNA [NM_023956]	0,64	1,00	0,74
Gzmc	NM_134332	Rattus norvegicus granzyme C (Gzmc), mRNA [NM_134332]	0,77	0,67	0,70
Hao2	NM_032082	Rattus norvegicus hydroxyacid oxidase 2 (long chain) (Hao2), mRNA [NM_032082]	1,27	0,77	0,69
Hebp1_predicted	XM_342775	PREDICTED: Rattus norvegicus heme binding protein 1 (predicted) (Hebp1_predicted), mRNA [XM_342775]	1,00	1,32	0,81
Hmgb1	NM_012963	Rattus norvegicus high mobility group box 1 (Hmgb1), mRNA [NM_012963]	0,73	1,35	0,54
Hmgcs2	NM_173094	Rattus norvegicus 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A synthase 2 (Hmgcs2), mRNA [NM_173094]	0,81	0,80	0,51
Hmmr	NM_012964	Rattus norvegicus hyaluronan mediated motility receptor (Hmmr), mRNA [NM_012964]	1,07	1,08	0,82
Hod	NM_133621	Rattus norvegicus homeobox only domain (Hod), mRNA [NM_133621]	1,05	0,68	0,77
Hp	NM_012582	Rattus norvegicus haptoglobin (Hp), mRNA [NM_012582]	1,25	0,30	0,59
Hpgd	NM_024390	Rattus norvegicus 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (Hpgd), mRNA [NM_024390]	0,75	1,17	0,63
Hprt	NM_012583	Rattus norvegicus hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (Hprt), mRNA [NM_012583]	0,91	1,00	0,82
Hrasls3	NM_017060	Rattus norvegicus HRAS like suppressor (Hrasls3), mRNA [NM_017060]	0,97	0,65	0,51
Hrasls3	NM_017060	Rattus norvegicus HRAS like suppressor (Hrasls3), mRNA [NM_017060]	1,11	0,68	0,55
Hrsp12	NM_031714	Rattus norvegicus heat-responsive protein 12 (Hrsp12), mRNA [NM_031714]	1,07	0,76	0,75
Hsd11b1	NM_017080	Rattus norvegicus hydroxysteroid 11-beta dehydrogenase 1 (Hsd11b1), mRNA [NM_017080]	1,42	1,09	0,73
Hsd11b1	NM_017080	Rattus norvegicus hydroxysteroid 11-beta dehydrogenase 1 (Hsd11b1), mRNA [NM_017080]	0,91	0,78	0,56
Hsd17b10	NM_031682	Rattus norvegicus hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase 10 (Hsd17b10), mRNA [NM_031682]	1,01	0,81	0,72
ldh3g	NM_031551	Rattus norvegicus isocitrate dehydrogenase 3, gamma (ldh3g), mRNA [NM_031551]	0,78	0,78	0,81
Igf1	M17594	Rat pre-pro-insulin-like growth factor mRNA, class C, 5' end. [M17594]	0,77	0,61	0,65
Igf1	NM_178866	Rattus norvegicus insulin-like growth factor 1 (Igf1), mRNA [NM_178866]	0,79	0,40	0,51
Insl3	NM_053680	Rattus norvegicus insulin-like 3 (Insl3), mRNA [NM_053680]	1,17	0,62	0,44
Itpr2	NM_031046	Rattus norvegicus inositol 1,4,5-triphosphate receptor 2 (Itpr2), mRNA [NM_031046]	0,95	1,40	0,74
Kcng2_predicted	XM_225718	PREDICTED: Rattus norvegicus potassium voltage-gated channel, subfamily G, member 2 (predicted) (Kcng2_predicted), mRNA [XM_225718]	0,85	0,84	0,70
Klra5	NM_198746	Rattus norvegicus killer cell lectin-like receptor, subfamily A, member 5 (Klra5), mRNA [NM_198746]	1,05	0,98	0,81
L26525	L26525	RATPTK3D Rattus norvegicus tyrosine kinase receptor (Ptk-3) gene, complete cds [L26525]	1,00	0,86	0,62
Lcat	NM_017024	Rattus norvegicus lecithin cholesterol acyltransferase (Lcat), mRNA [NM_017024]	1,21	0,84	0,82
Lgals1	NM_019904	Rattus norvegicus lectin, galactose binding, soluble 1 (Lgals1), mRNA [NM_019904]	0,93	0,49	0,56
Lgi4	NM_199499	Rattus norvegicus leucine-rich repeat LGI family, member 4 (Lgi4), mRNA [NM_199499]	0,91	0,68	0,66
LOC290877	XM_214392	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein 4933417N17 (LOC290877), mRNA [XM_214392]	2,43	0,67	0,46
LOC291387	XM_225658	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L26 (LOC291387), mRNA [XM_225658]	0,78	0,94	0,68
LOC292128	XM_238062	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC292128 (LOC292128), mRNA [XM_238062]	0,94	1,34	0,58
LOC293847	XM_219711	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to MAP kinase phosphatase 4 (LOC293847), mRNA [XM_219711]	0,75	0,85	0,79
LOC294660	XM_212921	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to peroxiredoxin 1 (LOC294660), mRNA [XM_212921]	1,02	0,93	0,75
LOC295092	XM_227212	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to GTPase activating protein testicular GAP1 (LOC295092), mRNA [XM_227212]	1,17	0,83	0,71
LOC297853	XM_232701	Rattus norvegicus similar to High mobility group protein 1 (HMG-1) (Amphoterin) (Heparin-binding protein p30) (LOC297853), mRNA [XM_232701]	1,02	1,25	0,78
LOC298998	XM_238451	PREDICTED: Rattus norvegicus hypothetical LOC298998 (LOC298998), mRNA [XM_238451]	0,48	1,42	0,52
LOC300173	XM_217027	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to CG9996-PA (LOC300173), mRNA [XM_217027]	0,97	1,13	0,82
LOC301299	XM_217361	Rattus norvegicus similar to ribosomal protein L10a (LOC301299), mRNA [XM_217361]	1,08	0,83	0,75

LOC301444	XM_237195	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Ac1-130 (LOC301444), mRNA [XM_237195]	1,12	0,95	0,81
LOC311112	XM_230003	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 5330408N05 gene (LOC311112), mRNA [XM_230003]	1,05	1,05	0,83
LOC314979	XM_235306	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ12428 (LOC314979), mRNA [XM_235306]	1,39	1,19	0,59
LOC316318	XM_237047	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to TESP2 (LOC316318), mRNA [XM_237047]	1,58	1,36	0,70
LOC363463	XM_343782	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Mospd2 protein (LOC363463), mRNA [XM_343782]	0,95	0,82	0,69
Lpd	NM_134389	Rattus norvegicus lipidosin (Lpd), mRNA [NM_134389]	1,13	0,80	0,79
Lrpap1	XM_341239	PREDICTED: Rattus norvegicus low density lipoprotein receptor-related protein associated protein 1 (Lrpap1), mRNA [XM_341239]	1,07	1,20	0,76
Lyn	NM_030857	Rattus norvegicus Yamaguchi sarcoma viral (v-yes-1) oncogene homolog (Lyn), mRNA [NM_030857]	1,03	1,09	0,72
MGC109006	NM_001009707	Rattus norvegicus similar to C33A12.3-like (MGC109006), mRNA [NM_001009707]	1,07	1,12	0,83
MGC112844	XM_342152	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to expressed sequence AI429613 (LOC361857), mRNA [XM_342152]	0,85	0,56	0,66
MGC72973	NM_198776	Rattus norvegicus beta-glo (MGC72973), mRNA [NM_198776]	1,00	0,83	0,72
MGC94167	NM_001007710	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA C130099A20 (MGC94167), mRNA [NM_001007710]	0,93	1,03	0,82
MGC95217	NM_001007679	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 2310028N02 (MGC95217), mRNA [NM_001007679]	1,13	1,09	0,81
Mgl1	NM_022393	Rattus norvegicus macrophage galactose N-acetyl-galactosamine specific lectin 1 (Mgl1), mRNA [NM_022393]	1,39	0,93	0,77
Mgp	NM_012862	Rattus norvegicus matrix Gla protein (Mgp), mRNA [NM_012862]	1,01	0,77	0,83
Mgst3_predicted	XM_213943	PREDICTED: Rattus norvegicus microsomal glutathione S-transferase 3 (predicted) (Mgst3_predicted), mRNA [XM_213943]	0,86	0,71	0,72
Mrvldc1_predicted	XM_219885	PREDICTED: Rattus norvegicus MARVEL (membrane-associating) domain containing 1 (predicted) (Mrvldc1_predicted), mRNA [XM_219885]	1,24	1,13	0,76
Myom1	XM_237523	PREDICTED: Rattus norvegicus myomesin 1 (skelemin) 185kDa (Myom1), mRNA [XM_237523]	0,86	0,84	0,65
Nipsnap1_predicted	XM_341249	PREDICTED: Rattus norvegicus 4-nitrophenylphosphatase domain and non-neuronal SNAP25-like protein homolog 1 (C. elegans) (predicted) (Nipsnap1_predicted), mRNA [XM_341249]	0,87	0,65	0,63
NM_001013082	NM_001013082	Rattus norvegicus paraoxonase 2 (predicted) (Pon2_predicted), mRNA [NM_001013082]	0,99	0,79	0,81
NM_001013137	NM_001013137	Rattus norvegicus chemokine (C-X-C motif) ligand 14 (predicted) (Cxcl14_predicted), mRNA [NM_001013137]	1,13	0,88	0,59
NM_001013427	NM_001013427	Rattus norvegicus retinoic acid receptor responder (tazarotene induced) 2 (predicted) (Rarres2_predicted), mRNA [NM_001013427]	0,97	0,62	0,62
NM_001013889	NM_001013889	Rattus norvegicus carboxylesterase-like (LOC291863), mRNA [NM_001013889]	1,05	0,68	0,51
NM_001013916	NM_001013916	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1110055L24 (predicted) (RGD1307606_predicted), mRNA [NM_001013916]	0,99	1,08	0,83
NM_001014071	NM_001014071	Rattus norvegicus similar to Mitogen-inducible gene 6 protein homolog (Mig-6) (Gene 33 polypeptide) (predicted) (RGD1307599_predicted), mRNA [NM_001014071]	1,30	0,80	0,79
NM_001014161	NM_001014161	Rattus norvegicus similar to NADP+-specific isocitrate dehydrogenase (LOC361596), mRNA [NM_001014161]	0,97	0,73	0,82
NM_001015008	NM_001015008	Rattus norvegicus transcription elongation factor A (SII), 3 (predicted) (Tcea3_predicted), mRNA [NM_001015008]	0,76	0,94	0,46
NM_001024267	NM_001024267	Rattus norvegicus similar to Microsomal signal peptidase 23 kDa subunit (SPase 22 kDa subunit) (SPC22/23) (MGC109340), mRNA [NM_001024267]	0,95	0,70	0,71
NM_001024345	NM_001024345	Rattus norvegicus similar to tropomyosin 1, embryonic fibroblast - rat (MGC109519), mRNA [NM_001024345]	0,98	0,70	0,65
NM_001024345	NM_001024345	Rattus norvegicus similar to tropomyosin 1, embryonic fibroblast - rat (MGC109519), mRNA [NM_001024345]	0,89	0,82	0,65
NM_001025708	NM_001025708	Rattus norvegicus opioid growth factor receptor-like 1 (predicted) (Ogfrl1_predicted), mRNA [NM_001025708]	1,09	0,82	0,72
NM_001030026	NM_001030026	Rattus norvegicus interferon gamma inducible protein 30 (predicted) (Ifi30_predicted), mRNA [NM_001030026]	1,13	0,79	0,77
NM_201423	NM_201423	Rattus norvegicus UDP glycosyltransferase 1 family polypeptide A2 (Ugt1a2), mRNA [NM_201423]	1,06	0,59	0,52
Np	XM_214155	PREDICTED: Rattus norvegicus nucleoside phosphorylase (Np), mRNA [XM_214155]	0,93	0,78	0,65
NP798074	NP798074	major histocompatibility complex class I Eu-like protein [Rattus sp.] [NP798074]	0,84	0,81	0,45
Nr1i2	NM_052980	Rattus norvegicus nuclear receptor subfamily 1, group I, member 2 (Nr1i2), mRNA [NM_052980]	0,97	0,89	0,79
Nup54	NM_017361	Rattus norvegicus nucleoporin 54 (Nup54), mRNA [NM_017361]	0,97	1,07	0,67
Oat	NM_022521	Rattus norvegicus ornithine aminotransferase (Oat), mRNA [NM_022521]	0,79	0,73	0,73
Ogn_predicted	XM_214441	PREDICTED: Rattus norvegicus osteoglycin (predicted) (Ogn_predicted), mRNA [XM_214441]	1,15	0,90	0,83
Ogn_predicted	XM_214441	PREDICTED: Rattus norvegicus osteoglycin (predicted) (Ogn_predicted), mRNA [XM_214441]	1,19	1,15	0,82
Omd	NM_031817	Rattus norvegicus osteomodulin (Omd), mRNA [NM_031817]	1,21	1,04	0,74
Pah	NM_012619	Rattus norvegicus phenylalanine hydroxylase (Pah), mRNA [NM_012619]	0,83	0,21	0,27
Pccb	NM_017030	Rattus norvegicus propionyl coenzyme A carboxylase, beta polypeptide (Pccb), mRNA [NM_017030]	0,97	0,83	0,80
Pdcl	NM_022247	Rattus norvegicus phosducin-like (Pdcl), mRNA [NM_022247]	1,10	1,10	0,74
Pdgfra	XM_214030	PREDICTED: Rattus norvegicus platelet derived growth factor receptor, alpha polypeptide (Pdgfra), mRNA [XM_214030]	1,11	1,05	0,66
Peci	NM_001006966	Rattus norvegicus similar to Peci protein (Peci), mRNA [NM_001006966]	1,09	0,83	0,82
Pf4	NM_001007729	Rattus norvegicus platelet factor 4 (Pf4), mRNA [NM_001007729]	1,07	1,24	0,72
Pglyrp1	NM_053373	Rattus norvegicus peptidoglycan recognition protein 1 (Pglyrp1), mRNA [NM_053373]	1,16	0,98	0,79
Ppp1r14c	NM_133425	Rattus norvegicus protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 14c (Ppp1r14c), mRNA [NM_133425]	0,81	0,93	0,72

Prdx1	NM_057114	Rattus norvegicus peroxiredoxin 1 (Prdx1), mRNA [NM_057114]	1,12	0,88	0,77
Prnp	NM_012631	Rattus norvegicus prion protein (Prnp), mRNA [NM_012631]	1,13	0,88	0,79
Prpg2	NM_172065	Rattus norvegicus proline-rich proteoglycan 2 (Prpg2), mRNA [NM_172065]	1,15	1,25	0,70
Prrx1	NM_153821	Rattus norvegicus paired related homeobox 1 (Prrx1), mRNA [NM_153821]	0,87	0,75	0,76
Prss11	NM_031721	Rattus norvegicus protease, serine, 11 (Igf binding) (Prss11), mRNA [NM_031721]	0,89	0,74	0,72
Prss23	NM_001007691	Rattus norvegicus protease, serine, 23 (Prss23), mRNA [NM_001007691]	1,23	1,50	0,81
Prss8	NM_138836	Rattus norvegicus protease, serine, 8 (prostasin) (Prss8), mRNA [NM_138836]	0,99	1,01	0,60
Psmb8	NM_080767	Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type 8 (Psmb8), mRNA [NM_080767]	0,97	0,77	0,75
Psmb9	NM_012708	Rattus norvegicus proteasome (prosome, macropain) subunit, beta type 9 (Psmb9), mRNA [NM_012708]	0,99	0,61	0,79
Ptgds	NM_013015	Rattus norvegicus prostaglandin D2 synthase (Ptgds), mRNA [NM_013015]	0,86	0,83	0,77
Ptges	NM_021583	Rattus norvegicus prostaglandin E synthase (Ptges), mRNA [NM_021583]	1,04	0,81	0,80
Ptn	NM_017066	Rattus norvegicus pleiotrophin (Ptn), mRNA [NM_017066]	1,03	0,85	0,74
Pycs_predicted	XM_342048	Rattus norvegicus similar to pyrroline-5-carboxylate synthetase (LOC361755), mRNA [XM_342048]	0,93	0,85	0,79
Rab31	BC072698	Rattus norvegicus GTP-binding protein Rab0, mRNA (cDNA clone MGC:91462 IMAGE:7105732), complete cds [BC072698]	0,98	0,93	0,82
Ramp1	NM_031645	Rattus norvegicus receptor (calcitonin) activity modifying protein 1 (Ramp1), mRNA [NM_031645]	0,98	0,93	0,76
Rasd2	NM_133568	Rattus norvegicus RASD family, member 2 (Rasd2), mRNA [NM_133568]	0,79	0,53	0,70
Retsat	NM_145084	Rattus norvegicus all-trans-13,14-dihydroretinol saturase (Retsat), mRNA [NM_145084]	0,88	0,63	0,68
RGD:1302955	NM_212532	Rattus norvegicus dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2 (Ddah2), mRNA [NM_212532]	0,73	0,87	0,70
RGD:1303092	NM_001002821	Rattus norvegicus histocompatibility 2, T region locus 18 (H2-T18), mRNA [NM_001002821]	0,63	0,83	0,28
RGD:1303327	NM_001004249	Rattus norvegicus integral type I protein (MGC94283), mRNA [NM_001004249]	0,92	0,80	0,77
RGD:621508	NM_031565	Rattus norvegicus carboxylesterase 1 (Ces1), mRNA [NM_031565]	1,05	0,89	0,66
RGD:708363	NM_173123	Rattus norvegicus cytochrome P450 4F4 (Cyp4f4), mRNA [NM_173123]	0,86	0,44	0,58
RGD:735139	BC062391	Rattus norvegicus CG6210-like, mRNA (cDNA clone MGC:72636 IMAGE:5621215), complete cds. [BC062391]	0,94	0,91	0,74
RGD1305593_predicted	XM_213716	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1810042K04 (predicted) (LOC288513), mRNA [XM_213716]	0,93	1,18	0,78
RGD1306256_predicted	XM_341812	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ30373 (predicted) (LOC361528), mRNA [XM_341812]	0,83	0,67	0,60
RGD1306411_predicted	XM_341839	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to LIM domains containing 1; DNA segment, Chr 9, ERATO Doi 192, expressed (predicted) (LOC361552), mRNA [XM_341839]	0,88	1,12	0,75
RGD1306974_predicted	XM_341005	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 5830458K16Rik protein (predicted) (LOC360733), mRNA [XM_341005]	0,89	1,26	0,66
RGD1307844_predicted	XM_236715	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 106 kDa O-GlcNAc transferase-interacting protein (predicted) (LOC316085), mRNA [XM_236715]	0,87	0,86	0,79
RGD1308064_predicted	XM_214293	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to FKSG24 (predicted) (LOC290645), mRNA [XM_214293]	0,88	0,67	0,68
RGD1309490_predicted	XM_222806	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Kelch-like protein X (predicted) (LOC304920), mRNA [XM_222806]	0,86	1,14	0,77
RGD1309721_predicted	NM_001009670	Rattus norvegicus similar to Dorz1 (predicted) (RGD1309721_predicted), mRNA [NM_001009670]	0,86	0,93	0,79
RGD1309766_predicted	XM_232051	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ13910 (predicted) (LOC312439), mRNA [XM_232051]	0,92	1,18	0,81
RGD1310110_predicted	XM_341307	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to 3632451O06Rik protein (predicted) (LOC361032), mRNA [XM_341307]	0,74	0,66	0,55
RGD1310643_predicted	XM_230891	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to HEF-like protein (predicted) (LOC296409), mRNA [XM_230891]	1,13	1,43	0,63
RGD1311534_predicted	XM_224623	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to cDNA sequence BC019806 (predicted) (LOC306270), mRNA [XM_224623]	1,11	1,12	0,79
Rgs2	NM_053453	Rattus norvegicus regulator of G-protein signaling 2 (Rgs2), mRNA [NM_053453]	0,76	0,75	0,76
Rkhd1_predicted	XM_234921	PREDICTED: Rattus norvegicus ring finger (C3HC4 type) and KH domain containing 1 (predicted) (Rkhd1_predicted), mRNA [XM_234921]	0,89	0,77	0,83
RT1-Aw2	M24324	Rat MHC class I RT1 (RTS) mRNA (u haplotype), 3' end. [M24324]	0,98	0,84	0,79
RT1-Bb	NM_001004084	Rattus norvegicus RT1 class II, locus Bb (RT1-Bb), mRNA [NM_001004084]	0,67	0,92	0,44
RT1-CE1	NM_001008832	Rattus norvegicus RT1 class I, CE1 (RT1-CE1), mRNA [NM_001008832]	0,82	0,81	0,54
RT1-CE10	NM_001008833	Rattus norvegicus RT1-CE10 protein (RT1-CE10), mRNA [NM_001008833]	0,52	0,72	0,26
RT1-CE12	NM_001008835	Rattus norvegicus RT1 class I, CE12 (RT1-CE12), mRNA [NM_001008835]	0,83	0,84	0,55
RT1-CE4	NM_001008842	Rattus norvegicus RT1 class I, CE4 (RT1-CE4), mRNA [NM_001008842]	0,67	0,72	0,49
RT1-CI	NM_206848	Rattus norvegicus RT1 class Ib, locus CI (RT1-CI), mRNA [NM_206848]	0,93	0,82	0,65
RT1-CI	NM_206848	Rattus norvegicus RT1 class Ib, locus CI (RT1-CI), mRNA [NM_206848]	1,04	0,83	0,76
RT1-M6-2	NM_001008853	Rattus norvegicus RT1 class I, M6, gene 2 (RT1-M6-2), mRNA [NM_001008853]	0,82	0,83	0,54
RT1-N1	NM_012646	Rattus norvegicus RT1 class Ib gene, H2-TL-like, grc region (N1) (RT1-N1), mRNA [NM_012646]	1,00	0,95	0,54
RT1-N3	L23128	Rattus norvegicus MHC class I mRNA, complete cds. [L23128]	0,91	1,01	0,81
RT1-S3	XM_215303	PREDICTED: Rattus norvegicus RT1 class Ib, locus S3 (RT1-S3), mRNA [XM_215303]	0,90	0,80	0,63
S43941	S43941	insulin-like growth factor I (exon 6) [rats, Genomic/mRNA, 7224 nt] [S43941]	0,83	0,40	0,71
Scgb1d2	NM_177482	Rattus norvegicus secretoglobulin, family 1D, member 2 (Scgb1d2), mRNA [NM_177482]	1,08	1,07	0,81

Sftpc	NM_017342	Rattus norvegicus surfactant associated protein C (Sftpc), mRNA [NM_017342]	0,96	0,89	0,67
Slc16a11_predicted	XM_213334	PREDICTED: Rattus norvegicus solute carrier family 16 (monocarboxylic acid transporters), member 11 (predicted) (Slc16a11_predicted), mRNA [XM_213334]	1,13	0,72	0,77
Slc1a3	NM_019225	Rattus norvegicus solute carrier family 1 (glial high affinity glutamate transporter), member 3 (Slc1a3), mRNA [NM_019225]	0,88	0,58	0,75
Slc37a4	NM_031589	Rattus norvegicus solute carrier family 37 (glycerol-6-phosphate transporter), member 4 (Slc37a4), mRNA [NM_031589]	0,82	0,61	0,74
Slc37a4	NM_031589	Rattus norvegicus solute carrier family 37 (glycerol-6-phosphate transporter), member 4 (Slc37a4), mRNA [NM_031589]	0,85	0,64	0,76
Slc7a8	NM_053442	Rattus norvegicus solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 8 (Slc7a8), mRNA [NM_053442]	0,82	0,84	0,53
Snrpn	NM_031117	Rattus norvegicus small nuclear ribonucleoprotein N (Snrpn), mRNA [NM_031117]	1,12	1,36	0,80
Sp5_predicted	XM_231003	PREDICTED: Rattus norvegicus trans-acting transcription factor 5 (predicted) (Sp5_predicted), mRNA [XM_231003]	1,18	1,14	0,58
Spp1	NM_012881	Rattus norvegicus secreted phosphoprotein 1 (Spp1), mRNA [NM_012881]	1,15	0,68	0,64
Ssg1	XM_573284	PREDICTED: Rattus norvegicus steroid sensitive gene 1 (Ssg1), mRNA [XM_573284]	0,96	0,67	0,62
Stat1	NM_032612	Rattus norvegicus signal transducer and activator of transcription 1 (Stat1), mRNA [NM_032612]	0,87	0,96	0,80
Stom_predicted	XM_575120	PREDICTED: Rattus norvegicus stomatin (predicted) (Stom_predicted), mRNA [XM_575120]	1,13	1,23	0,80
Sult1a1	NM_031834	Rattus norvegicus sulfotransferase family 1A, phenol-preferring, member 1 (Sult1a1), mRNA [NM_031834]	1,02	0,81	0,62
Susd3_predicted	XM_225203	PREDICTED: Rattus norvegicus sushi domain containing 3 (predicted) (Susd3_predicted), mRNA [XM_225203]	0,83	0,63	0,64
Tas2r13	NM_023998	Rattus norvegicus taste receptor, type 2, member 13 (Tas2r13), mRNA [NM_023998]	1,66	1,85	0,74
TC519983	TC519983	Q9EPG1 (Q9EPG1) M50 olfactory receptor, partial (8%) [TC519983]	0,91	0,99	0,83
TC520163	TC520163	Unknown	1,05	0,85	0,79
TC520453	TC520453	Unknown	1,03	1,01	0,66
TC524696	TC524696	Q8G272 (Q8G272) Malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase, partial (7%) [TC524696]	0,83	0,85	0,83
TC529368	TC529368	Unknown	1,08	1,15	0,76
TC535323	TC535323	O65214 (O65214) Cysteine protease , partial (3%) [TC535323]	1,53	2,32	0,60
TC538431	TC538431	Unknown	0,93	1,24	0,79
TC538797	TC538797	Q6NLL5 (Q6NLL5) LP04080p, partial (7%) [TC538797]	0,96	1,11	0,82
TC538999	TC538999	Unknown	0,86	0,82	0,76
TC540333	TC540333	Q8JQW9 (Q8JQW9) Polyprotein (Fragment), partial (5%) [TC540333]	1,27	0,52	0,47
TC540526	TC540526	Unknown	0,92	0,85	0,82
TC541371	TC541371	Unknown	0,94	1,26	0,67
TC541474	TC541474	Q8RR97 (Q8RR97) Flagellin protein FliA(A), partial (5%) [TC541474]	1,14	1,02	0,70
TC544685	TC544685	Unknown	1,13	0,57	0,80
TC545104	TC545104	Unknown	1,11	1,12	0,82
TC545635	TC545635	Q91YL4 (Q91YL4) Dock5 protein, partial (37%) [TC545635]	1,01	1,03	0,74
TC548038	TC548038	Unknown	0,99	1,03	0,77
TC549054	TC549054	MUSPURNU2P purine nucleoside phosphorylase {Mus musculus;} , partial (15%) [TC549054]	1,04	0,82	0,79
TC551179	TC551179	Unknown	1,18	1,40	0,81
TC551725	TC551725	Q7QFG1 (Q7QFG1) AgCP13522 (Fragment), partial (3%) [TC551806]	0,88	0,93	0,82
TC551852	TC551852	Q7TQ12 (Q7TQ12) Aa1114, partial (9%) [TC551852]	0,97	1,04	0,78
TC552694	TC552694	SH3L_MOUSE (Q9JJU8) SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein, complete [TC552694]	1,06	0,95	0,63
TC553160	TC553160	HSU12404 Csa-19 (Homo sapiens;} , partial (8%) [TC553160]	0,89	1,25	0,83
TC553589	TC553589	Q6GVJ0 (Q6GVJ0) Mitogen-activated protein kinase 2-associated protein 1r, partial (5%) [TC553588]	0,85	0,55	0,81
TC553622	TC553622	Unknown	1,23	0,85	0,64
TC555021	TC555021	Unknown	0,89	0,54	0,58
TC556091	TC556091	Unknown	0,75	0,79	0,80
TC560290	TC560290	Unknown	1,05	0,87	0,81
TC566757	TC566757	Unknown	1,04	1,29	0,83
TC566774	TC566774	Unknown	0,84	1,31	0,74
Txn1	NM_053800	Rattus norvegicus thioredoxin 1 (Txn1), mRNA [NM_053800]	1,00	0,76	0,71
Vcam1	NM_012889	Rattus norvegicus vascular cell adhesion molecule 1 (Vcam1), mRNA [NM_012889]	1,13	0,43	0,53
Vtn	NM_019156	Rattus norvegicus vitronectin (Vtn), mRNA [NM_019156]	1,07	0,93	0,77
Wtap_predicted	XM_574313	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to Wilms tumor 1-associating protein (WT1-associated protein) (Putative pre-mRNA splicing regulator female-lethal(2D) homolog) (LOC499020), mRNA [XM_574313]	1,34	0,93	0,72
XM_213440	XM_213440	PREDICTED: Rattus norvegicus collagen, type 1, alpha 1 (Col1a1), mRNA [XM_213440]	0,89	0,85	0,53

XM_214671	XM_214671	Rattus norvegicus hypothetical LOC291982 (LOC291982), mRNA [XM_214671]	1,03	0,81	0,72
XM_215087	XM_215087	Rattus norvegicus similar to hypothetical protein FLJ90661 (LOC293517), mRNA [XM_215087]	0,95	0,89	0,69
XM_227645	XM_227645	Rattus norvegicus similar to High mobility group protein 1 (HMG-1) (Amphoterin) (Heparin-binding protein p30) (LOC310826), mRNA [XM_227645]	1,03	1,06	0,60
XM_343718	XM_343718	Rattus norvegicus similar to RIKEN cDNA 1700001E04 (LOC363383), mRNA [XM_343718]	1,06	1,14	0,78
XM_343822	XM_343822	Rattus norvegicus similar to Bex1 protein (LOC363499), mRNA [XM_343822]	0,79	0,64	0,71
XM_346120	XM_346120	Rattus norvegicus similar to Liver carboxylesterase 1 precursor (Carboxylesterase ES-1) (E1) (ES-THET) (LOC367389), mRNA [XM_346120]	1,12	0,77	0,70
XM_573068	XM_573068	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to high mobility group protein (LOC497883), mRNA [XM_573068]	1,01	1,06	0,55
XM_573168	XM_573168	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to novel protein (LOC497974), mRNA [XM_573168]	1,00	1,24	0,82
XM_573509	XM_573509	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to intelectin (LOC498284), mRNA [XM_573509]	1,48	1,06	0,77
XM_573691	XM_573691	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to myozenin 1 (LOC498440), mRNA [XM_573691]	1,06	0,81	0,63
XM_574072	XM_574072	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to isopentenyl diphosphate delta-isomerase type 2 (LOC498787), mRNA [XM_574072]	0,99	1,27	0,71
XM_574380	XM_574380	PREDICTED: Rattus norvegicus poliovirus receptor-related 2 (herpesvirus entry mediator B) (predicted) (Pvrl2_predicted), mRNA [XM_574380]	0,80	0,97	0,83
XM_575152	XM_575152	PREDICTED: Rattus norvegicus LOC499812 (LOC499812), mRNA [XM_575152]	0,98	1,01	0,67
XM_576194	XM_576194	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to high mobility group protein (LOC500806), mRNA [XM_576194]	1,09	1,10	0,56
XM_576327	XM_576327	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to shippo 1 (LOC500917), mRNA [XM_576327]	0,89	0,84	0,64
XM_577472	XM_577472	PREDICTED: Rattus norvegicus similar to DUF729 domain containing 1 (LOC364500), mRNA [XM_577472]	1,10	1,01	0,81
Yc2	NM_001009920	Rattus norvegicus glutathione S-transferase Yc2 subunit (Yc2), mRNA [NM_001009920]	1,06	0,67	0,60
Z93363	Z93363	R.norvegicus mRNA for immunoglobulin variable region (clone ERF2.37). [Z93363]	1,11	0,91	0,81
Zadh2_predicted	XM_214526	PREDICTED: Rattus norvegicus zinc binding alcohol dehydrogenase, domain containing 2 (predicted) (Zadh2_predicted), mRNA [XM_214526]	1,02	0,88	0,76

5. Table e : Liste des protéines testiculaires identifiées par MALDI-ToF/MS et/ou ESI-MS/MS

Numero d'accession	Nom de la protéine	Nom du gène	Type d'identification	Score	Nombre peptides / % recouvrement	Mr(10 ⁻³)(Da) / pl Théorique
51859211	ATP-binding cassette, sub-family F (GCN20), member 3	Abcf3	ESI-MS/MS	461	8 / 14	79.85 / 6.06
38541337	Acyl-CoA dehydrogenase, long chain specific, mitochondrial [precursor]	Acadl	MALDI-ToF	7.22e+010	20 / 42	47.87 / 7.63
			MALDI-ToF	4.32e+009	19 / 40	47.87 / 7.63
			ESI-MS/MS	321	8 / 16	47.87 / 7.63
P15651	Acyl-CoA dehydrogenase, short chain specific, mitochondrial [precursor]	Acads	MALDI-ToF	7.47e+010	19 / 67	44.76 / 8.47
			MALDI-ToF	5.16e+021	32 / 79	44.76 / 8.47
			ESI-MS/MS	564	13 / 33	44.76 / 8.47
55741502	Acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 2	Acat2	MALDI-ToF	1.44e+005	10 / 19	68.70 / 6.18
55741502	Acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 2	Acat2	ESI-MS/MS	330	9 / 34	68.70 / 6.18
19705503	Gonadotropin-regulated long chain acyl-CoA synthetase	Acsbg1	MALDI-ToF	2.49e+014	30 / 45	80.52 / 5.65
			MALDI-ToF	1.09e+021	38 / 52	80.52 / 5.65
19705503	Gonadotropin-regulated long chain acyl-CoA synthetase	Acsbg1	ESI-MS/MS	1369	26 / 36	80.52 / 5.65

13242320	A-kinase anchor protein 4	Akap4	ESI-MS/MS	725	18 / 25	93.49 / 6.37
P07943	Aldose reductase	Akr1b1	MALDI-ToF	3.93e+005	8 / 25	35.79 / 6.26
			ESI-MS/MS	464	12 / 39	35.79 / 6.26
27465603	Aldo-keto reductase family 1, member B8	Akr1b8	MALDI-ToF	1.1e+007	14 / 49	36.19 / 7.08
			MALDI-ToF	9.77e+007	19 / 60	36.19 / 7.08
			MALDI-ToF	3.35e+006	10 / 31	36.19 / 7.08
			MALDI-ToF	1.54e+007	15 / 46	36.19 / 7.08
P02770	Serum albumin prec	Alb	MALDI-ToF	1.26e+018	33 / 57	68.72 / 6.09
P02770	Serum albumin prec	Alb	MALDI-ToF	8.01e+012	20 / 37	68.72 / 6.09
P02770	Serum albumin prec	Alb	MALDI-ToF	3.55e+019	33 / 60	68.72 / 6.09
P51647	Retinal dehydrogenase 1	Aldh1a1	MALDI-ToF	2.67e+004	13 / 29	54.46 / 7.95
			MALDI-ToF	1.93e+006	15 / 26	54.46 / 7.95
57921067	10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase Chain A, Cristal structure of the N term hydrolase domin of 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase	Aldh111	ESI-MS/MS	255	7 / 12	99.72 / 5.64
42543697	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor]	Aldh2	MALDI-ToF	2.94e+009	19 / 34	56.49 / 6.63
P11884	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor]	Aldh2	MALDI-ToF	3.08e+006	11 / 24	56.49 / 6.63
P11884	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor]	Aldh2	MALDI-ToF	1.88e+004	6 / 15	56.49 / 6.63
			MALDI-ToF	3.01e+007	13 / 26	56.49 / 6.63
P11884	Aldehyde dehydrogenase, mitochondrial [precursor]	Aldh2	MALDI-ToF	3.83e+007	12 / 29	56.49 / 6.63
			MALDI-ToF	4.76e+009	19 / 37	56.49 / 6.63
62664437	Predicted: similar to aldehyde dehydrogenase family 7 member A1	Aldh7a1	MALDI-ToF	1.04e+010	23 / 46	57.29 / 7.13
62664437	Predicted: similar to aldehyde dehydrogenase family 7 member A1	Aldh7a1	ESI-MS/MS	465	11 / 25	57.29 / 7.14
75905479	Aldehyde dehydrogenase family 9, subfamily A1	Aldh9a1	ESI-MS/MS	427	13 / 29	54.53 / 6.57
75905479	Aldehyde dehydrogenase family 9, subfamily A1	Aldh9a1	MALDI-ToF	4.42e+005	17 / 32	54.53 / 6.57
75905479	Aldehyde dehydrogenase family 9, subfamily A1	Aldh9a1	MALDI-ToF	1.29e+005	14 / 34	54.53 / 6.57
75905479	Aldehyde dehydrogenase family 9, subfamily A1	Aldh9a1	MALDI-ToF	3.46e+008	19 / 44	54.53 / 6.57
75905479	Aldehyde dehydrogenase family 9, subfamily A1	Aldh9a1	MALDI-ToF	5.34e+008	20 / 43	54.53 / 6.57
62643738	Predicted: similar to apolipoprotein A-I binding protein (Prot Clivée, Ext C-term)	Apoa1bp	ESI-MS/MS	290	7 / 14	81.56 / 8.38
P02650	Apolipoprotein E [precursor]	ApoE	MALDI-ToF	1.64e+005	14 / 44	35.75 / 5.23
			MALDI-ToF	5.14e+004	14 / 33	35.75 / 5.23
			MALDI-ToF	1.45e+006	14 / 38	35.75 / 5.23
55742827	Rho GDP dissociation inhibitor (GDI) alpha	Arhgdia	ESI-MS/MS	123	12 / 55	23.41 / 5.12
47939008	5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/IMP cyclohydrolase	Atic	ESI-MS/MS	1150	19 / 49	64.23 / 6.72
38176435	BCL2-associated athanogene 5	Bag5	ESI-MS/MS	248	5 / 15	51.03 / 5.84
55250706	3(2),5-bisphosphate nucleotidase	Bpnt1	ESI-MS/MS	744	17 / 64	33.49 / 5.58
29789195	Basic transcription factor 3-like 4 (<i>Mouse</i>)	Btf3l4	ESI-MS/MS	185	5 / 38	17.27 / 5.95
P27139	Carbonic anhydrase 2	Ca2	MALDI-ToF	5.17e+010	14 / 63	29.11 / 6.89
			MALDI-ToF	2.93e+003	8 / 30	29.11 / 6.90
			MALDI-ToF	5.77e+017	22 / 77	29.11 / 6.89

P27139	Carbonic anhydrase 2	Ca2	ESI-MS/MS	118	3 / 22	29.11 / 6.89
P27139	Carbonic anhydrase 2	Ca2	MALDI-ToF	7.88e+003	8 / 34	29.11 / 6.89
54400732	F-actin capping protein beta subunit	Capzb	ESI-MS/MS	525	13 / 64	30.63 / 5.69
38969850	Chaperonin subunit 3 (gamma)	Cct3	ESI-MS/MS	876	15 / 30	60.65 / 6.23
P16303	Carboxylesterase 3 [precursor]	Ces3	MALDI-ToF	7e+006	13 / 29	62.14 / 6.34
P16303	Carboxylesterase 3 [precursor]	Ces3	MALDI-ToF	1.17e+010	20 / 34	62.14 / 6.34
P16303			MALDI-ToF	5.99e+010	23 / 43	62.14 / 6.34
P16303			MALDI-ToF	5.27e+013	21 / 50	62.14 / 6.34
53733543	Cytokine induced apoptosis inhibitor 1	Ciapin1	ESI-MS/MS	103	2 / 12	33.04 / 5.30
P07335	Creatine kinase B-type	Ckb	ESI-MS/MS	687	11 / 39	42.71 / 5.33
6978705	Carnitine palmitoyltransferase 2	Cpt2	ESI-MS/MS	866	18 / 28	74.11 / 6.89
6978705	Carnitine palmitoyltransferase 2	Cpt2	ESI-MS/MS	814	16 / 32	74.11 / 6.89
61097941	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 1	Ddx1	ESI-MS/MS	837	18 / 28	83.41 / 6.81
38303871	Dihydrolipoamide dehydrogenase	Dld	ESI-MS/MS	765	16 / 34	54.04 / 7.96
55742725	Dihydrolipoamide S-succinyltransferase (E2 component of 2-oxo-glutarate complex)	Dlst	ESI-MS/MS	472	12 / 24	48.93 / 8.89
55742725	Dihydrolipoamide S-succinyltransferase (E2 component of 2-oxo-glutarate complex)	Dlst	ESI-MS/MS	373	7 / 17	48.93 / 8.89
Q62871	Dynein intermediate chain 2, cytosolic	Dync1i2	MALDI-ToF	4.23e+010	19 / 33	71.18 / 5.11
12018256	Enoyl coenzyme A hydratase 1, peroxisomal	Ech1	ESI-MS/MS	346	9 / 28	36.18 / 8.13
51261278	Eukaryotic translation elongation factor 1 gamma	Eef1g	MALDI-ToF	1.02e+006	14 / 27	50.06 / 6.31
Q68FR6	Eukaryotic translation elongation factor 1 gamma	Eef1g	MALDI-ToF	1.69e+010	24 / 43	50.06 / 6.32
8393296	Eukaryotic translation elongation factor 2	Eef2	ESI-MS/MS	363	7 / 10	95.15 / 6.42
51980596	Eukaryotic translation initiation factor 3, subunit 6	Eif3s6	ESI-MS/MS	240	7 / 18	52.22 / 5.71
16758870	Eukaryotic translation initiation factor 4E	Eif4e	ESI-MS/MS	149	3 / 17	25.05 / 5.79
6978809	Enolase 1, alpha	Eno1	ESI-MS/MS	365	7 / 22	47.00 / 6.16
34419911	Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase [precursor]	Etfdh	MALDI-ToF	5.32e+003	6 / 15	68.19 / 7.33
			MALDI-ToF	1.32e+011	25 / 45	68.19 / 7.33
			ESI-MS/MS	673	16 / 22	68.19 / 7.33
204197	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	G6pdx	ESI-MS/MS	518	14 / 29	59.24 / 5.97
204197	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	G6pdx	ESI-MS/MS	267	6 / 12	59.24 / 5.97
			MALDI-ToF	1.08e+013	32 / 53	59.24 / 5.97
P05370			MALDI-ToF	1.29e+021	39 / 63	59.24 / 5.97
62641851	Predicted: similar to alpha glucosidase II, alpha subunit	Ganab	MALDI-ToF	8.83e+008	16 / 23	109.45 / 5.76
P50399	Rab GDP dissociation inhibitor beta-2	Gdi2	MALDI-ToF	3.75e+007	17 / 26	50.68 / 5.66
34879586	Predicted: similar to glycerol kinase-like 1	Gk-rs1	ESI-MS/MS	163	4 / 9	61.07 / 5.35
51259527	Glucokinase activity, related sequence 2	Gk-rs2	ESI-MS/MS	927	25 / 44	61.01 / 5.11
66910916	Guanine monphosphate synthetase	Gmps	ESI-MS/MS	476	9 / 18	76.76 / 6.21
41351301	Guanine nucleotide-binding protein, beta-2 subunit	Gnb2	ESI-MS/MS	581	12 / 42	37.20 / 5.60
P04904	Glutathione S-transferase alpha 3	Gsta3	MALDI-ToF	1.92e+003	6 / 20	25.19 / 8.83
P14942	Glutathione S-transferase alpha 4	Gsta4	MALDI-ToF	1.38e+009	20 / 58	25.51 / 6.77
P08010	Glutathione S-transferase Mu 2	Gstm2	MALDI-ToF	8.5e+014	28 / 86	25.70 / 6.91

P08009	Glutathione S-transferase Mu 3	Gstm3	MALDI-ToF	2.66e+016	28 / 86	25.70 / 6.91
25282395	Glutathione S-transferase Mu 5	Gstm5	MALDI-ToF	8.15e+006	17 / 73	25.55 / 7.27
P17425	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase, cytoplasmic	Hmgcs1	MALDI-ToF	4.39e+007	19 / 47	26.63 / 6.34
50927765	Hematological and neurological expressed sequence 1	Hn1	ESI-MS/MS	6.9e+006	14 / 26	57.43 / 5.59
P61980	Heterogenous nuclear ribonucleoprotein K	Hnrpk	MALDI-ToF	222	3 / 38	15.44 / 5.02
P06866	Haptoglobin prec	Hp	MALDI-ToF	1.44e+006	13 / 25	50.98 / 5.39
P55063	Heat shock 70kDa protein 1L	Hspa11	MALDI-ToF	8.58e+003	12 / 28	38.55 / 6.10
P14659	Heat shock-related 70 kDa protein 2	Hspa2	MALDI-ToF	2.2e+009	18 / 33	38.55 / 6.10
P14659	Heat shock-related 70 kDa protein 2	Hspa2	MALDI-ToF	6.61e+011	25 / 39	70.55 / 5.91
109464712	Predicted: similar to heat shock 70kDa protein 4-like (OSP94)	Hspa4l	MALDI-ToF	3.84e+004	10 / 14	69.53 / 5.44
109464712	Predicted: similar to heat shock 70kDa protein 4-like (OSP94)	Hspa4l	MALDI-ToF	2.2e+013	24 / 49	69.53 / 5.44
P48721	Stress-70 protein, mitochondrial [precursor]	Hspa9	ESI-MS/MS	1.55e+024	54 / 46	136.27 / 6.80
1778213	Chaperonin 60	Hspd1	MALDI-ToF	1.55e+024	54 / 46	136.27 / 6.80
1778213	Chaperonin 60	Hspd1	MALDI-ToF	1286	25 / 42	73.86 / 5.97
1334284	Chaperonin 60 (-26 AA nterm)	Hspd1	MALDI-ToF	4.52e+004	12 / 18	60.95 / 5.91
1334284	Chaperonin 60 (-26 AA nterm)	Hspd1	MALDI-ToF	2.18e+010	24 / 52	60.95 / 5.91
P41562	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic	Idh1	ESI-MS/MS	291	5 / 13	60.95 / 5.91
16758446	Isocitrate dehydrogenase [NAD+] subunit alpha	Idh3a	MALDI-ToF	1350	29 / 51	60.95 / 5.91
16758446	Isocitrate dehydrogenase [NAD+] subunit alpha	Idh3a	ESI-MS/MS	6.31e+008	22 / 54	46.73 / 6.53
O35760	Isopentenyl-diphosphate delta-isomerase 1	Idi1	MALDI-ToF	4.83e+003	7 / 26	39.61 / 6.46
77917546	Inner membrane protein, mitochondrial	Immt	MALDI-ToF	146	3 / 12	39.61 / 6.46
P19629	L-lactate dehydrogenase C chain (LDH testis subunit)	Ldhc	MALDI-ToF	8.94e+006	8 / 41	26.40 / 5.57
P48679	Lamin A	Lmna	MALDI-ToF	4.81e+008	13 / 53	26.40 / 5.57
109487833	Predicted: similar to pyridoxal (pyridoxine, vitamin B6) phosphatase	Loc287115	MALDI-ToF	2.84e+013	28 / 33	92.27 / 5.74
109487833	Predicted: similar to pyridoxal (pyridoxine, vitamin B6) phosphatase	Loc287115	ESI-MS/MS	781	22 / 28	92.27 / 5.74
62078495	Myo-inositol 1-phosphate synthase A1	Loc290651	MALDI-ToF	6.52e+005	10 / 33	35.69 / 7.56
62078495	Myo-inositol 1-phosphate synthase A1	Loc290651	MALDI-ToF	1.29e+005	14 / 19	74.32 / 6.54
66911459	Similar to T-Brain-1	Loc311078	MALDI-ToF	1.86e+008	16 / 52	34.60 / 5.21
62945278	Similar to oxoglutarate dehydrogenase	Loc360975	MALDI-ToF	4.26e+010	21 / 55	34.60 / 5.21
62945278	Similar to oxoglutarate dehydrogenase	Loc360975	MALDI-ToF	2.72e+007	14 / 28	60.88 / 5.73
62079183	Similar to chaperonin containing TCP-1 zeta-2 subunit	Loc363658	ESI	527	13 / 27	60.88 / 5.73
38454250	Loss of heterozygosity 11 chromosomal region 2 gene A homolog	Loh11cr2a	ESI-MS/MS	358	11 / 48	34.58 / 6.06
1942172	Coordinates Of Rat Map Kinase Erk2 With An Arginine Mutation At Position 52	Mapk1	ESI-MS/MS	847	22 / 26	117.42 / 6.30
15100179	Malate dehydrogenase 1, NAD (soluble)	Mdh1	MALDI-ToF	9.57e+007	24 / 20	117.42 / 6.30
P13697	NADP-dependent malic enzyme	Me1	MALDI-ToF	1.42e+007	19 / 31	58.17 / 6.95
29293813	Pre-B-cell colony-enhancing factor 1	Nampt	MALDI-ToF	177	4 / 9	92.28 / 6.18
			ESI-MS/MS	529	11 / 45	42.50 / 6.70
			MALDI-ToF	2.78e+003	8 / 26	36.48 / 6.16
			MALDI-ToF	2.17e+007	17 / 33	64.00 / 6.49
			MALDI-ToF	3.81e+006	13 / 29	55.44 / 6.69

62648960	Predicted: similar to N-acetylneuraminic acid synthetase	Nans	MALDI-ToF	9.3e+007	17 / 47	64.00 / 6.49
56268926	Nit1 protein	Nit1	ESI-MS/MS	677	18 / 63	36.03 / 6.59
50925505	Sperm outer dense fiber major protein 2 / Cenexin 1	Odf2	ESI-MS/MS	851	28 / 29	73.31 / 7.21
			MALDI-ToF	3.7e+007	31 / 45	63.58 / 5.94
P04176	Phenylalanine-4-hydrolase	Pah	MALDI-ToF	1.81e+004	8 / 18	51.69 / 5.77
O88767	Contraception associated protein-1 (DJ-1 protein)	Park7	ESI-MS/MS	78	13 / 61	20.19 / 6.32
1709948	Pyruvate carboxylase, mitochondrial precursor (Pyruvic carboxylase) (PCB)	Pc	ESI-MS/MS	486	10 / 12	129.69 / 6.25
92654	Propionyl-CoA carboxylase alpha chain precursor -(fragt)	Pcca	ESI-MS/MS	744	15 / 25	77.71 / 6.33
P11598	Protein disulfide isomerase A3 [precursor]	Pdia3	MALDI-ToF	3.80e+009	16 / 34	56.62 / 5.88
			MALDI-ToF	1.06e+017	32 / 51	56.62 / 5.88
P11598	Protein disulfide isomerase A3 [precursor]	Pdia3	MALDI-ToF	3.32e+015	30 / 60	56.62 / 5.88
P11598	Protein disulfide isomerase A3 [precursor]	Pdia3	MALDI-ToF	1.33e+015	32 / 58	56.62 / 5.88
P11598	Protein disulfide isomerase A3 [precursor]	Pdia3	MALDI-ToF	4.59e+015	29 / 52	56.62 / 5.88
Q63081	Protein disulfide-isomerase A6 [precursor]	Pdia6	ESI-MS/MS	836	22 / 42	48.17 / 5.00
62078533	Protein disulfide isomerase-like protein of the testis	Pdilt	MALDI-ToF	3.67e+009	25 / 91	68.27 / 5.62
8393910	Phosphatidylethanolamine binding protein	Pebp1	MALDI-ToF	1.69e+005	12 / 36	68.27 / 5.62
P25113	Phosphoglycerate mutase 1	Pgam1	MALDI-ToF	2.62e+006	9 / 38	28.64 / 6.19
62650033	Predicted: similar to 6-phosphogluconate dehydrogenase, decarboxylating	Pgd	MALDI-ToF	9.11e+007	23 / 47	52.78 / 6.57
34877556	Predicted: similar to 6-phosphogluconolactonase	Pgls	MALDI-ToF	5.59e+009	13 / 57	30.82 / 6.38
P67779	Prohibitin	Phb	MALDI-ToF	5.29e+003	8 / 19	29.82 / 5.57
			ESI-MS/MS	102	11 / 39	29.82 / 5.57
P54319	Phospholipase A2 activating protein	Plaa	MALDI-ToF	2.24e+004	8 / 16	71.19 / 5.55
67678118	Serine/threonine-protein phosphatase 2A 65 kDa regulatory subunit A beta isoform	Ppp2r1b	ESI-MS/MS	526	10 / 25	66.01 / 4.99
49900877	Peptidylprolyl isomerase D (cyclophilin D)	Ppid	ESI-MS/MS	280	8 / 18	40.63 / 6.71
1071868	Phosphoprotein phosphatase V	"PpV"	ESI-MS/MS	215	4 / 21	35.79 / 5.52
P35704	Peroxiredoxin 2	Prdx2	MALDI-ToF	7.7e+004	8 / 33	21.78 / 5.34
			MALDI-ToF	3.09e+004	7 / 27	21.78 / 5.34
11968132	Peroxiredoxin 3	Prdx3	MALDI-ToF	3.66e+004	8 / 28	28.32 / 7.15
37590233	Peroxiredoxin 4	Prdx4	ESI-MS/MS	338	10 / 27	31.01 / 6.18
			MALDI-ToF	2.85e+006	11 / 36	31.01 / 6.18
6981396	Protein kinase, cAMP dependent regulatory, type I, alpha	Prkar1a	ESI-MS/MS	724	14 / 41	42.96 / 5.27
P28073	Proteasome subunit beta type 6 [precursor]	Psemb6	ESI-MS/MS	163	6 / 17	25.29 / 4.85
109508092	Predicted: similar to 26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 7 (Prot Clivée: Ext C-term)	Psm7	ESI-MS/MS	544	11 / 35	44.67 / 8.9
58476513	Proteasome (Prosome, macropain) 28 subunit, 3	Psm3	ESI-MS/MS	308	7 / 28	29.51 / 5.69
81883342	Twinfilin-1	Ptk9	ESI-MS/MS	732	16 / 47	40.10 / 6.20
62658198	Predicted: similar to Ran-specific GTPase-activating protein	Ranbp1	MALDI-ToF	1.67e+004	12 / 42	30.12 / 6.31
67678300	Similar to RIKEN cDNA 1810007P19 (=hyp prot LOC362595)	RGD1306596	ESI-MS/MS	527	11 / 41	43.34 / 5.86
62078763	Hypothetical protein RGD1311107	RGD1311107	MALDI-ToF	4.17e+010	25 / 53	50.56 / 5.32
109464568	Predicted: similar to membrane-associated ring finger (C3HC4) 6 (Prot clivée, Ext C-term)	RGD1565757	ESI-MS/MS	421	10 / 6	178.23 / 8.2
109465364	Predicted: similar to Gstm6 protein	RGD1563391	MALDI-ToF	3.52e+010	26 / 45	48.04 / 5.68

O09175	Aminopeptidase B	Rnpep	MALDI-ToF	1.26e+007	14 / 43	48.04 / 5.68
Q62991	Sec1 family domain-containing protein 1	Scfd1	MALDI-ToF	2.1e+007	15 / 24	72.62 / 5.47
109459435	Predicted: similar to selenophosphate synthetase 2	Sephs2	ESI-MS/MS	545	13 / 27	72.26 / 6.09
P17475	Alpha-1-antiproteinase prec	Sephs2	ESI-MS/MS	395	8 / 33	42.03 / 5.60
40786501	Sperm protein ssp411	Serpina1	ESI-MS/MS	549	19 / 33	46.11 / 5.70
40786501	Sperm protein ssp411	Ssp411	MALDI-ToF	6.02e+007	25 / 27	88.19 / 6.56
40786501	Sperm protein ssp411	Ssp411	MALDI-ToF	7.98e+012	31 / 36	88.19 / 6.56
40786501	Sperm protein ssp411	Ssp411	MALDI-ToF	1.1e+006	20 / 22	88.19 / 6.56
40786501	Sperm protein ssp411	Ssp411	MALDI-ToF	8.29e+008	34 / 38	88.19 / 6.56
P97826	Steroidogenic acute regulatory protein, mitochondrial [precursor]	Star	MALDI-ToF	2.67e+005	9 / 37	31.50 / 8.93
2511703	Stress-induced-phosphoprotein 1	Stip1	ESI-MS/MS	1067	28 / 45	62.57 / 6.40
71051169	Stomatin (Epb7.2)-like 2	Stoml2	ESI-MS/MS	249	4 / 15	38.50 / 8.74
Q01755	Testis-specific protein PBS13 (<i>mouse</i>)	Tcp11	MALDI-ToF	1.82e+007	15 / 21	61.97 / 6.08
P12346	Serotransferrin [precursor]	Tf	MALDI-ToF	1.14e+018	34 / 48	76.36 / 6.94
			MALDI-ToF	4.24e+010	19 / 32	76.36 / 6.94
P48500	Triosephosphate isomerase	Tpi1	MALDI-ToF	2.15e+008	14 / 72	26.92 / 6.45
55741837	TNF receptor-associated protein 1	Trap1	MALDI-ToF	5.17e+005	11 / 20	80.46 / 6.56
62639032	Predicted: similar to Transcription intermediary factor 1-beta	Trim28	ESI-MS/MS	413	9 / 12	111.05 / 8.31
62078971	Ubiquitin-like domain containing CTD phosphatase 1	Ublcp1	ESI-MS/MS	196	5 / 15	36.96 / 6.07
62661011	Predisted: similar to Vinculin (Metavinculin)	Vcl	ESI-MS/MS	2025	43 / 31	165.26 / 6.26
P61480	WD repeat protein 12	Wdr12	ESI-MS/MS	508	10 / 29	47.56 / 5.56