

## **La mémoire olfactive chez la drosophile**

### **I Les différentes phases de mémoire**

Il est possible d'étudier la rétention de mémoire après une procédure de conditionnement olfactif. En faisant varier l'intervalle de temps entre la phase de conditionnement et la phase de test, on peut établir une courbe de rétention mnésique. La performance de la souche de référence sauvage C.S. diminue en fonction du temps. Alors que juste après le conditionnement le score d'apprentissage est de 85%, trois heures après l'indice de performance est d'environ 50 %. D'autres expériences comportementales, toujours basées sur cette procédure d'apprentissage associatif, ont permis de s'intéresser aux différentes formes ou composantes de la mémoire. La mémoire à court terme, qui s'étend de quelques secondes à plusieurs minutes, est supposée reposer sur des changements d'efficacité synaptique produits par des altérations physiologiques rapides et transitoires dans les neurones donnés. Par contre, la mémoire à long terme, qui perdure de plusieurs jours à la vie entière, est supposée se former sur des changements d'efficacité synaptique durable, et être accompagnée de restructurations synaptiques morphologiques induites par des modifications de l'expression génique.

#### a- L'apprentissage

L'apprentissage, ou LRN (learning), correspond à la phase d'acquisition d'une réponse conditionnée durant l'entraînement. Il consiste à acquérir ou à modifier une représentation de l'environnement. Ce processus cognitif permet à un animal d'utiliser son expérience passée pour assimiler l'organisation de son environnement et les conséquences de ses propres actions, afin de s'y accommoder.

#### b- La mémoire à court terme

La mémoire à court terme, ou MCT (mémoire à court terme), est induite durant l'acquisition, atteignant un niveau maximal juste après entraînement (un cycle), puis revient à 0 dans les heures suivantes. Une expérience simple a permis de démontrer l'existence de deux

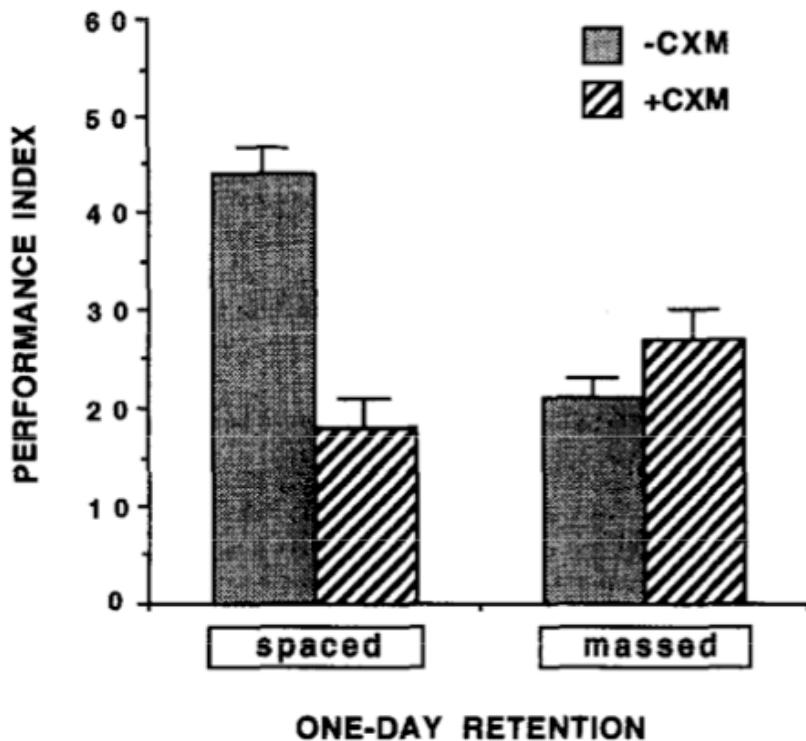
composantes de la mémoire à court terme. Des mouches soumises à une température de 4°C perdent une partie de l'information stockée. Il y a eu anesthésie par le froid. Cette approche montre qu'après apprentissage, l'information est stockée en parallèle de deux manières différentes : l'une de ces voie est sensible au froid et correspondrait à un stockage de l'information sous forme d'activité électrique du réseau neuronal, et l'autre serait insensible au froid et supportée par les modifications moléculaires plus stables.

#### c- La mémoire à moyen terme

La MTM (Middle Term Memory) dépend de la MCT et atteint son maximum dans l'heure qui suit un cycle d'entraînement, puis disparaît dans les quelques heures suivantes. Elle est sensible aux anesthésies par le froid et est abolie chez les mutants *amnesiac* (*amn*). Le mutant (Quinn, Sziber et al., 1979), également isolé après une mutagenèse à l'EMS, présente un score d'apprentissage presque sauvage mais une mémoire qui disparaît plus précocement. Pour *amn*, les phases tardives de mémorisation correspondant à ce type de mémoire semblent spécifiquement affectées (Tully and Quinn 1985). Il interviendrait ainsi dans la transition de la mémoire à court terme vers la mémoire à moyen terme, car les mutants *amn* semblent apprendre convenablement mais oublier très vite (après moins d'une heure).

#### d- Les mémoires consolidés : MRA et MLT

La MRA (mémoire résistante à l'anesthésie) est induite après un cycle d'entraînement, dix cycles massés, ou dix cycles espacés. Elle dépend de la MTM et atteint son maximum dans les deux heures suivantes l'entraînement et diminue dans les quatre jours suivants après un conditionnement de dix cycles massés. Il s'agit d'une forme de mémoire consolidée absente chez les mutants *radish* (*rsh*). Le mutant *rsh* a une mémoire consolidée inexiste après un entraînement massé, alors que la mémoire à long terme (MLT) est normale à deux jours. Il a été montré que l'administration dans la nourriture d'un inhibiteur de synthèse protéique, le cycloheximide ou CXM, inhibe la formation de la MLT (Tully, Prent et al., 1994) comme présenté sur la figure 3. Chez les mutants *rsh* l'administration de CXM reste sans effet sur la mémoire consolidée qui disparaît en deux jours. *Rsh* serait donc impliqué dans la mémoire à long terme indépendante de la synthèse protéique.



**Figure 3 :** Importance de la synthèse protéique pour la MLT

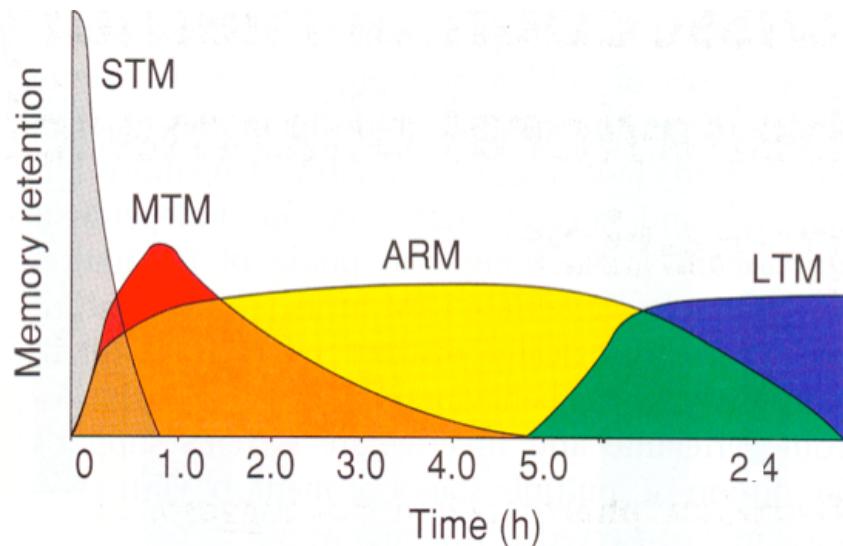
Un entraînement massé induit une mémoire consolidée insensible au CXM. Son IP se situe vers 25. Un entraînement espacé par contre induit des scores de 40, mais est sensible au CXM. Le CXM a un effet uniquement sur la composante de mémoire consolidée générée par les entraînements espacés. Le score de 20 observé est dû à l'autre forme de mémoire à long terme que l'on observe avec les entraînements massés. Cette expérience prouve la dépendance de la MLT pour la synthèse protéique. D'après Tully *et al.*, 1994.

La MLT est quant à elle uniquement induite après dix cycles de conditionnement espacés. Cette forme de mémoire est abolie lorsque les mouches sont nourries avec l'inhibiteur de synthèse protéique, le CXM. Elle dépend de la MTM, atteint son maximum un jour après l'entraînement et ne montre aucune baisse substantielle dans les jours qui suivent. Elle est dépendante du contrôle des protéines, et dure au moins jusqu'à sept jours.

Les figures 4 et 5 qui suivent permettent d'observer les courbes de rétention des différentes mémoires induites en fonction des différents protocoles de conditionnement, ainsi que leurs caractéristiques.

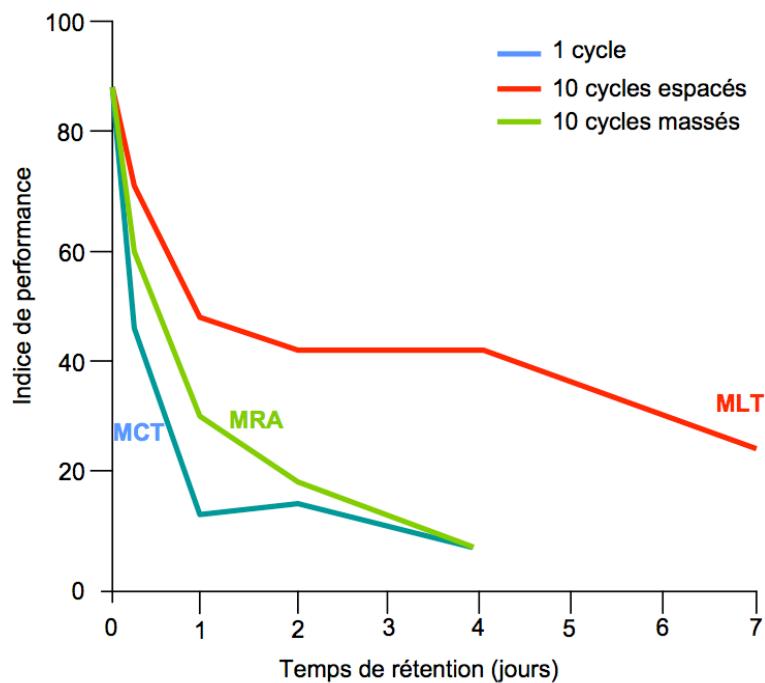
**Figure 4 :** Durée de vie des différentes phases de mémoire

La MCT atteint de suite son maximum et disparaît dans l'heure qui suit. La MTM atteint son maximum 1h après un cycle de conditionnement et dure jusqu'à 4-5h. Elle coexiste avec la MRA qui perdure au moins 1 jour, et peut être détectée jusqu'à 4 jours. Enfin la MLT qui n'apparaît qu'après un protocole espacé dure au-delà de 24h.



**Figure 5 :** Courbes de rétention des phases de mémoire

Après 10 cycles espacés, induction de MLT qui persiste jusqu'à 7 jours. Elle présente un score théorique de 40 après 24 h. Après 10 cycles massés, induction de la MRA qui peut persister jusqu'à 4 jours. A 24 h, son indice de performance est de 30. Après un seul cycle, induction d'une mémoire labile.



## **II Le système nerveux central de la drosophile**

Des connaissances sur la structure du cerveau sont indispensables pour une étude approfondie de ses propriétés de stockage de l'information. Il faut, avant de pouvoir disséquer les mécanismes qui sous-tendent la mémoire olfactive, comprendre comment cette information est intégrée par le système nerveux. Le cerveau de drosophile est constitué d'environ 100000 neurones (Shimada, 2005). Ces neurones sont unipolaires et leurs corps cellulaires sont massés à la périphérie du cerveau, alors que les projections axonales et dendritiques se regroupent en masse et forment le neuropile. Le neuromère le plus intéressant du cerveau de drosophile est le protocerebrum. Il est constitué de 4 structures chez l'adulte aux fonctions connues :

- Le complexe central, impliqué dans le contrôle locomoteur général de la mouche (environ 20000 neurones).
- Les lobes optiques, constitués d'environ 160000 neurones.
- La *pars intercerbralis* dans la partie antérieure composée de neurones neurosécrétateurs ascendants et descendants. Certains d'entre eux envoient des projections de la partie dorsale vers la partie centrale du cerveau pour se terminer dans des organes neuroendocriniens impliqués dans des fonctions diverses comme la mue et la synthèse d'hormone juvénile.
- Les corps pédonculés, dont la fonction est intimement liée à celle des lobes antennaires, sont impliqués dans de nombreux phénomènes dont l'apprentissage et la mémoire olfactive. Les corps pédonculés sont des structures caractéristiques du cerveau des insectes dont l'organisation est particulièrement bien conservée chez la plupart d'entre eux.

### L’ablation chimique des corps pédonculés abolit l’apprentissage et la mémoire olfactive

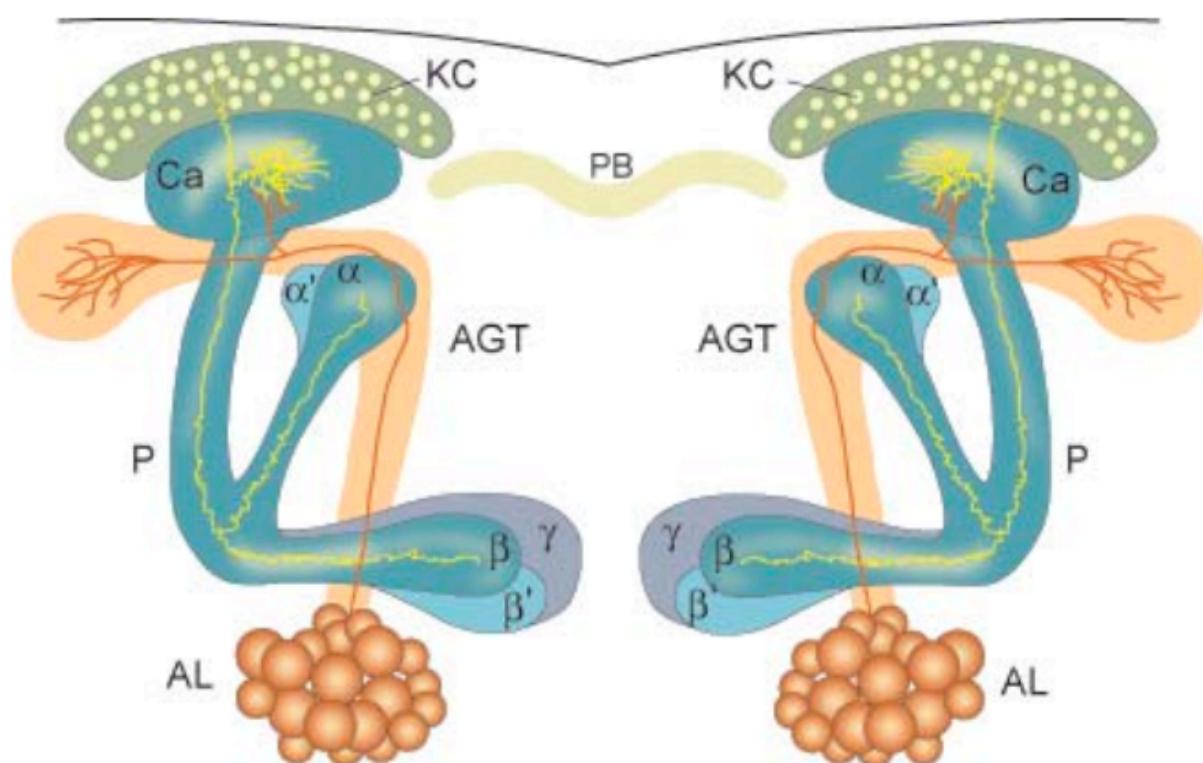
Plusieurs études ont permis d’établir que les corps pédonculés des insectes étaient impliqués dans l’apprentissage olfactif. Des lésions chirurgicales des corps pédonculés chez la fourmi ou chez l’abeille et l’utilisation de produit chimique -empêchant le développement de cellule en division- chez la drosophile ont révélé une détérioration voire une perte de la mémoire olfactive chez ces individus. Chez la drosophile, De Belle et Heisenberg (de Belle et Heisenberg 1994) ont mené des expériences avec de l’hydroxy-Urée (drogue qui détruit les cellules en divisions). En donnant du HU à des jeunes larves on détruit les neuroblastes en division, soit un neuroblaste des lobes antennaires et les 4 neuroblastes qui donnent naissance aux MBs. Les mouches qui naîtront des larves ayant subi ce traitement n’auront pas de corps pédonculés. Les auteurs de ces expériences ont pu alors montrer que ces mouches n’avaient aucune capacité d’apprentissage olfactif. La réactivité aux chocs électriques, la sensibilité aux différentes odeurs, et le comportement locomoteur ne sont en aucun cas affectés. Cette perte de capacité d’apprentissage olfactif est très spécifique. En effet les mouches dépourvues de corps pédonculés se comportent normalement lors des tests d’apprentissage visuel et tactile (Wolf, Wittig et al., 1998)

## III Une structure particulière : les corps pédonculés

### a- Description

Les corps pédonculés constituent une structure bilatérale formée de deux sous structures symétriques. Chacune d’entre elles est composée d’environ 2500 neurones appelés cellules de Kenyon (Crittenden, Skoulakis et al., 1998). Les corps cellulaires des cellules de Kenyon sont situés dans la partie dorsale et postérieure de chaque hémisphère et forment un groupe très dense de corps cellulaires, de taille relativement petite. Ils envoient leurs branches

dendritiques dans une région de forme glomérulaire appelée le calice. Ces branches sont des éléments post-synaptiques et reçoivent des signaux afférents de la voie olfactive des lobes antennaires. Les axones des cellules de Kenyon convergent alors sous le calice et forment un large faisceau de fibres parallèles très resserrées appelé le pédoncule, qui traverse le cerveau (figure 6).



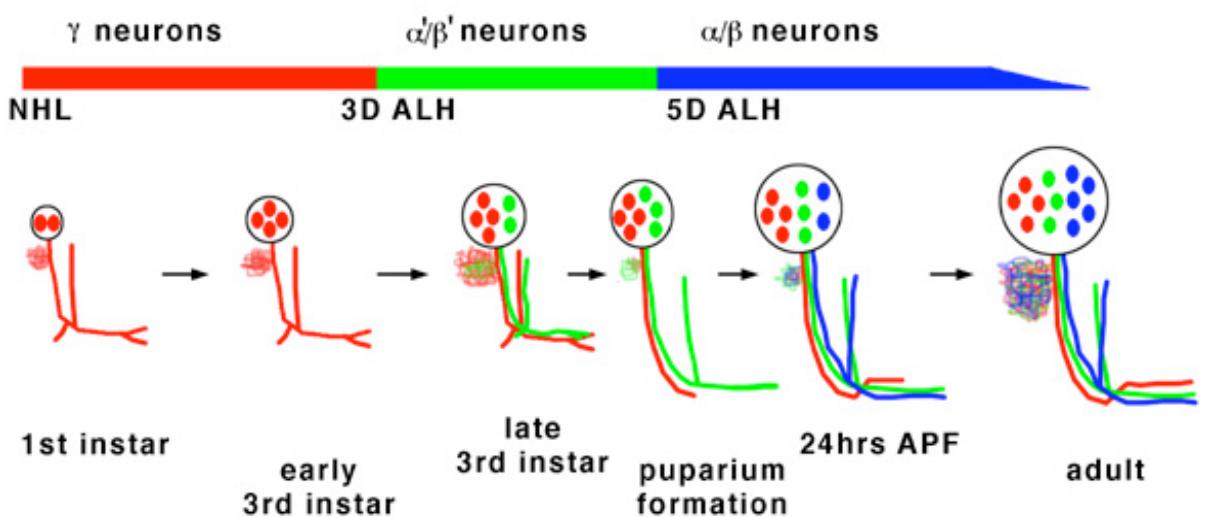
**Figure 6 :** Schéma des neurones des corps pédonculés

Les calices (Ca) contiennent les arborescences dendritiques des cellules de Kenyon (KC). Les axones de ces cellules projettent rostrolement au sein des pédoncules en donnant naissance à différents lobes : deux verticaux  $\alpha$  et  $\alpha'$  ; et trois horizontaux  $\beta$ ,  $\beta'$ , et  $\gamma$ .

Ce dernier se divise pour continuer dans deux directions principales et se projeter pour former les lobes. Trois faisceaux distincts se dirigent vers l'axe de symétrie et forment les lobes  $\beta$ ,  $\beta'$  et  $\gamma$ . Deux autres se dirigent dorsalement et forment les lobes verticaux  $\alpha$  et  $\alpha'$ . Les lobes  $\alpha$  et  $\beta$  d'une part, et  $\alpha'$  et  $\beta'$  d'autre part sont constitués d'axones provenant des mêmes neurones. Des coupes frontales du cerveau révèlent que les lobes médiaux sont accolés les uns aux autres, de même que les lobes dorsaux chez l'adulte. On distingue donc trois types de cellules de Kenyon : les axones avec une bifurcation au niveau du talon  $\alpha'/\beta'$  et  $\alpha/\beta$  et les axones sans bifurcation dans le lobe  $\gamma$  et le talon (Ito, Awano et al., 1997; Ito, Suzuki et al., 1998).

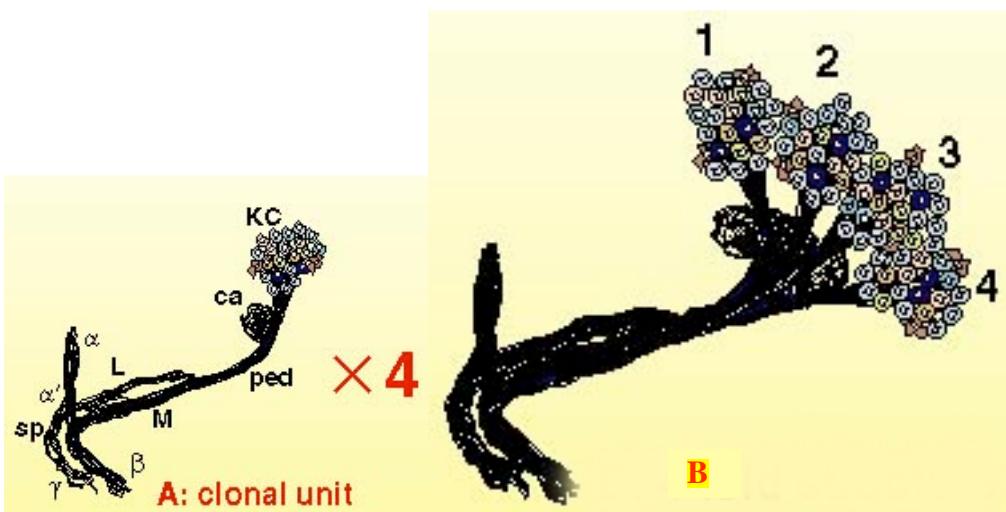
### b- Développement des corps pédonculés

Chaque corps pédonculé est issu de 4 neuroblastes localisés dans chaque hémisphère du cerveau. L'analyse du développement des cellules de Kenyon sur des clones mitotiques marqués (Mosaic Analysis with Repressible Cell Marker) (Lee, Lee et al., 1999) a indiqué que les trois différents types de neurones des corps pédonculés sont générés séquentiellement au cours du développement (figure 7). Les neurones  $\gamma$  naissent jusqu'au milieu du troisième stade larvaire; les neurones  $\alpha'/\beta'$  naissent entre le milieu du stade larvaire 3 et le début de la pupaison; et enfin les neurones  $\alpha/\beta$  naissent à partir de la pupaison. Les corps pédonculés embryonnaires sont donc exclusivement constitués des fibres  $\gamma$  médialement et dorsalement. C'est le développement de ces quatres neuroblastes qui donne un corps pédonculé (figure 8).



**Figure 7 :** Schéma du développement des corps pédonculés

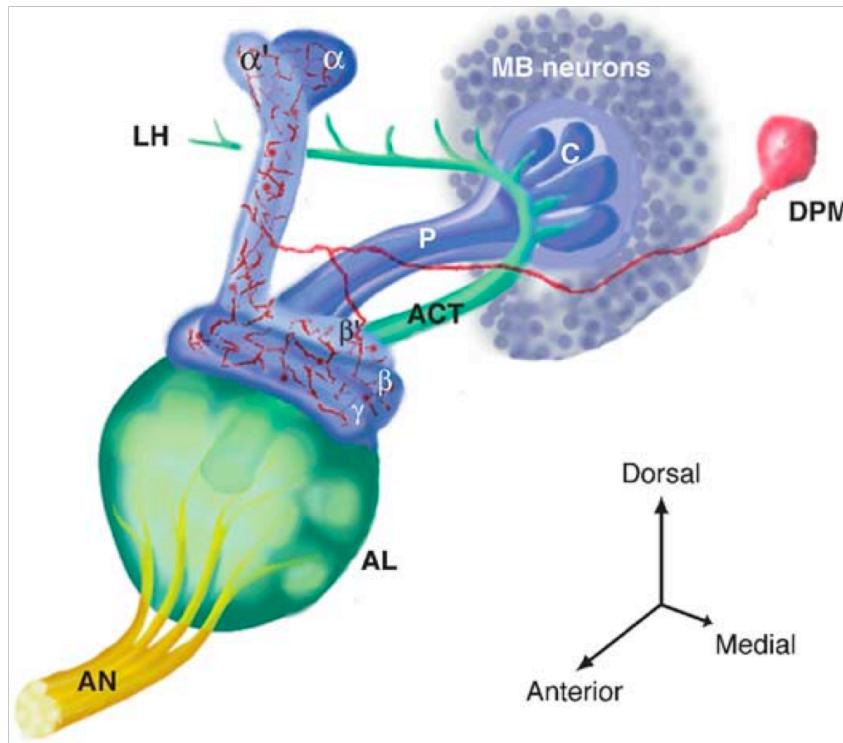
Chaque corps pédonculé dérive de 4 neuroblastes identiques dans chaque hémisphère. Par division asymétrique au cours des différents stades de développement, chaque corps pédonculé génère environ 2500 neurones, classés en 3 catégories en fonction de leur axe de projection. Ces 3 types de neurones des corps pédonculés naissent dans un ordre spécifique. Les neurones  $\gamma$  (rouge) apparaissent avant le milieu du 3<sup>e</sup> stade larvaire, les  $\alpha'/\beta'$  (vert) entre le milieu du 3<sup>e</sup> stade larvaire et le stade pupale, et le  $\alpha/\beta$  (bleu) après ce dernier stade. Pendant le début de la métamorphose, les axones et les dendrites des neurones  $\gamma$  dégénèrent partiellement et de nouvelles projections se forment mais uniquement en suivant l'axe médian. Les lobes  $\alpha'/\beta'$  ne subissent quant à eux que peu de transformation durant la métamorphose. Les lobes  $\alpha/\beta$  naissent quant à eux pendant la métamorphose et ne subissent pas de remaniement. (Lee, Lee et al., 1999).



#### IV Intégration des informations olfactives

Chez la drosophile, les odeurs sont détectées par une soixantaine de protéines réceptrices olfactives, chacune étant exprimées dans les neurones récepteurs olfactifs (ORN) situés au niveau des poils sensitifs sur les antennes (Davis 2004). Ces ORN projettent ensuite leurs axones via le nerf antennaire (AN), au niveau des glomérules dans les lobes antennaires (AL). Il y a 43 glomérules dans chaque lobe antennaire. Chaque ORN exprimant les mêmes protéines réceptrices olfactives projettent sur le même glomérule (Laissue, Reiter et al., 1999; Gao, Yuan et al., 2000; Vosshall, Wong et al., 2000; Scott, Brady et al., 2001). Dans ces lobes antennaires, les ORN forment des synapses excitatrices sur les neurones de projections (LH), mais également sur les interneurones locaux (LN). Ces interneurones sont GABAergiques et étendent également leur ramification de manière extensive sur les glomérules. L'information

est une première fois intégrée dans ces glomérule et est ensuite transmise aux corps pédonculés et au lathéral horn (LH) (Jefferis, Martin et al., 2001; Martin, Jefferis et al., 2002; Wong, Wang et al., 2002). L'ensemble de ces informations est schématisé sur la figure 9.



**Figure 9 :** Schéma d'intégration des informations olfactives par le système nerveux

Les odeurs sont détectées au niveau des antennes et remontent jusqu'aux lobes antennaires (AL), pour atteindre les gloméruleux représentés en vert. L'information est ensuite relayée par les neurones de projection vers les corps pédonculés et le latéral horn (Keene and Waddell 2007).

Les corps pédonculés sont une structure fondamentale dans les processus d'apprentissage de l'information olfactive. Les mutants anatomiques de cette région du cerveau présentent des défauts de mémoire sans pour autant affecter l'olfaction ou la locomotion. Néanmoins certains mutants des MBs présentent des défauts de locomotion mais pas dans les machines à test que nous utilisons (Martin et al., 1999). Ainsi, avant de détailler de l'intégration des différentes informations, et de discuter des multiples phases de mémoire et de leurs interactions, il est nécessaire de présenter préalablement les différents gènes connus pour avoir un rôle établi dans les phénomènes de mémorisation chez la drosophile.

## **V D'autres structures impliquées dans la mémoire**

Bien que les corps pédonculés, comme nous venons de le voir, ont un rôle central dans l'apprentissage chez la drosophile, ce n'est néanmoins pas la seule structure cérébrale à avoir un rôle dans les processus de mémorisation. Au cours de ces dernières années de nombreuses expériences ont mis en avant l'implication de neurones extrinsèques aux corps pédonculés ainsi que d'autres sites anatomiques pour la consolidation de la mémoire.

### **a- Les DPM**

En premier lieu, les DPM (Dorsal Paired Medial Neuron ou DPM), qui participent via le produit du gène *amnesiac* à la mise en place de la mémoire (Waddell, armstrong et al., 2000).

### **b- Les cellules gliales**

En 2004, l'équipe de Thomas Préat a montré que le gène *crammer* qui régule la mise en place de la mémoire à long terme est exprimé dans les cellules gliales qui entourent les corps pédonculés (Comas, Petit et al., 2004).

### **c- Autres structures**

De plus plusieurs lignées enhancer-trap présentant des patrons d'expression ailleurs que dans les corps pédonculés ont été identifiées lors de cribles comportementaux pour des déficits mnésiques (Dubnau, Chiang et al., 2003). Enfin, une structure asymétrique au sein du complexe central semble influer sur la formation de la mémoire à long terme (Pascual A., Huang, K.L., et al., 2004)

### **d- L'ellipsoid body**

En 2007 l'équipe du Pr Tim Tully a démontré l'implication d'une nouvelle structure dans la formation de la mémoire (Wu et al., 2007). En combinant des approches moléculaires et génétiques, ils ont montré que le gène dNR1 codant un récepteur au NMDA, homologue à ceux présents chez les mammifères, jouait un rôle dans la mémoire associative chez la

drosophile (Xia, Miyashita et al., 2005). Ce récepteur est exprimé faiblement dans l'ensemble du cerveau. Néanmoins les neurones de taille plus importante présentent des marquages plus intenses. Ils ont par la suite construit un RNAi contre ce gène dont ils ont conduit l'expression soit dans les corps pédonculés, soit dans l'ellipsoid body. Dans ce dernier cas la mémoire à long terme est spécifiquement affectée (en particulier la consolidation), alors que sur-exprimer ce RNAi dans les corps pédonculés affecte les phases de mémoire plus précoce. Ces résultats montrent clairement l'implication d'un nouveau site anatomique pour la formation de la MLT, mais aussi l'existence de différents niveaux de consolidation de celle-ci.

#### e- Les neurones dopaminergiques

La dopamine ou DA est un neuromodulateur impliqué dans le renforcement appétitif chez l'homme et l'aplysie (Mirenowicz and Schultz 1996), mais requis dans le conditionnement aversif chez la drosophile (Schwaerzel, Monastirioti et al., 2003). En combinant un pilote d'expression mimant celui des neurones dopaminergiques, et l'allèle thermosensible Shibire, Shwaerzel et ses collègues ont montré que le blocage de ces neurones durant l'acquisition bloque la MCT. Des expériences d'imagerie confirment ces données (Riemensperger, Voller et al., 2005)

### **VI La mise en place de la mémoire olfactive au sein des corps pédonculés fait intervenir de nombreux acteurs moléculaires**

La génétique tend à comprendre le vivant à travers l'étude des mutants. Ainsi pour conceptualiser la formation de la mémoire olfactive chez la drosophile, il a fallu au départ identifier des gènes responsables d'un dysfonctionnement comportemental. Aujourd'hui plus d'une vingtaine de gènes sont connus pour avoir un rôle dans la formation de la mémoire, et la plupart d'entre eux présentent une expression préférentielle au niveau des corps pédonculés. C'est d'ailleurs grâce à leur mise en évidence, que le rôle des corps pédonculés dans la formation de la mémoire est désormais considéré comme acquis.

Ainsi une expression au niveau des corps pédonculés seulement n'est pas un argument suffisant pour hypothéquer de son rôle dans les processus mnésiques, mais l'expression

préférentielle de nombreux acteurs moléculaires dans ces neurones rend hautement probable ce postulat. Nous verrons d'ailleurs que certains gènes nécessaires la mise en place de la mémoire ne s'expriment pas dans les corps pédonculés, mais dans des structures afférentes.

### **a- La voie de l'AMPc**

#### **Dunce (dnc)**

Le premier mutant de mémoire à avoir été isolé est *dunce* (Dudai, Jan et al., 1976). Il a été découvert dans le laboratoire du Seymour Benzer comme étant un mutant présentant de faibles capacités d'apprentissage malgré une réactivité aux stimuli normale. Initialement cartographié sur le chromosome X, des études menées dans d'autres laboratoires ont montré que cette région chromosomique avait un rôle concernant l'activité phosphodiesterase productrice d'AMPc. Il a fallu attendre plus de dix ans pour démontrer que les mutants *Dnc* étaient déficients dans cette activité phosphodiesterase. (Byers, Davis et al., 1981). Ce n'est qu'en 1986 que *dnc* fut caractérisé comme étant une phosphodiesterase AMPc dépendante (Chen, Denome et al., 1986). Une confirmation supplémentaire de son rôle dans la mémoire a été apportée lorsque le cDNA de *dnc* de drosophile ou de son homologue chez le rat fut exprimé chez des mutants Dunce, permettant un sauvetage partiel du mutant hypomorphe (Dauwalder and Davis 1995). L'étude de son patron d'expression montra que le gène est préférentiellement dans les corps pédonculés (Nighorn, Healy et al., 1991). C'est la première fois qu'une étude du patron d'expression a permis de faire le lien entre un mutant d'apprentissage et de mémoire et les corps pédonculés. Ce résultat fut ensuite confirmé par hybridation *in situ*.

#### **Rutabaga (rut)**

À la suite de la découverte de *dnc* en tant que mutant de mémoire, et élément important de la voie de signalisation de l'AMPc, la plupart des mutants découverts par la suite furent suspectés d'intervenir également dans l'activité de cette voie. En 1984, *Rutabaga* a été découvert et il a été démontré que ce gène, responsable d'un phénotype perte de mémoire, code une adénylate-cyclase de type I. Les mutants *rut* présentent une déficience dans l'activité adénylate-cyclase dépendante du complexe  $\text{Ca}^{2+}$ /calmoduline (Livingstone, Sziber et al., 1984). Le séquençage du locus de *rut*<sup>l</sup> a montré que le phénotype n'était dû qu'à une simple mutation, où une arginine était substituée par une glycine, en position 1026, au niveau du site

catalytique de la cyclase (Levin, Han et al., 1992). Des marquages immunohistochimique, et des expériences d’hybridation *in situ* ont démontré comme pour *dnc* une expression préférentielle de *rut* au niveau des neurones des corps pédonculés. Néanmoins la preuve du rôle de *rut* dans la mémoire est venue d’expériences de sauvetage en utilisant le système Gal4/UAS. Un transgène codant la protéine rut a été exprimé au niveau des corps pédonculés chez des mutants *rut*<sup>2080</sup>, permettant ainsi un sauvetage du phénotype de perte de mémoire (Zars, Wolf et al., 2000). Mais une critique importante fut émise concernant le mutant *dnc*. En effet, le rôle des adénylate-cyclases dans le développement du cerveau est très largement documenté dans la littérature (McGuire, Le et al., 2003). On ne peut dès lors différencier un réel mutant de mémoire d’un mutant de développement dont les effets sur la structure du cerveau ne sont pas observables. Ce problème a par la suite été résolu grâce à l’utilisation de promoteurs inductibles. Que ce soit avec le répresseur thermosensible de levure Gal80ts, ou avec l’hybride entre Gal4 et le récepteur humain de la progestérone Gene Switch, plusieurs équipes ont exprimé le transgène Rut uniquement à l’état adulte ou au stade larvaire chez des mutants *rut*<sup>2080</sup> (Mao, Roman et al., 2003; McGuire, Mao et al., 2004). Ils ont montré que l’induction de l’expression de *rut* uniquement au stade adulte est suffisante pour sauver le phénotype, alors qu’une expression seulement au cours du développement ne l’est pas. Enfin en 1988, Dudai a proposé un rôle de détecteur de coïncidence pour *rutabaga*, à la convergence des informations olfactives et électriques (Dudai 1988).

## PKA

Un troisième composant de la voie de signalisation de l’AMPc a par la suite été découvert pour son implication dans l’apprentissage et la mémoire de la drosophile. La protéine kinase A AMPc dépendante (*PKA*) est un acteur majeur de cette voie (Taylor, Buechler et al., 1990). Après la découverte de *dnc*, codant une phosphodiésterase (Chen, Denome et al., 1986), et Rut codant une adénylate cyclase dépendante de l’AMPc (Livingstone, Sziber et al., 1984), Drain et son équipe ont testé en 1991 différents inhibiteurs inductible de la *PKA* pour tester son rôle dans la mémoire (Drain, Folkers et al., 1991). Ils ont démontré que l’induction d’un peptide inhibiteur de la *PKA* avant le conditionnement avait un effet sur la mémoire. Alors que l’induction d’un peptide tronqué était sans effet. Il s’agit de la première évidence d’un rôle physiologique de la *PKA* dans les processus de mémorisation. Par la suite Skoulakis et ses collègues ont étudié un mutant de la sous-unité catalytique de la

*PKA*, *DCO* (Skoulakis, Kalderon et al., 1993). Différentes combinaisons génétiques ont montré que l'activité de la *PKA* était diminuée chez les mutants *DCO*, ce qui avait pour résultat d'augmenter de manière significative les défauts de mémoire chez la drosophile. Mais surtout, l'élément le plus important fut d'observer l'expression de la protéine au niveau des corps pédonculés. Il s'agit des trois composants les plus importants de la cascade biochimique de l'AMPc, qui sont nécessaires au processus mnésique, et sont tous exprimés au même endroit.

La *PKA* étant le premier effecteur en aval de la modulation de l'AMPc, elle agit sur de nombreuses cibles agissant de concert pour apporter aux niveaux cellulaire et moléculaire les changements nécessaires que nécessite la mise en place de la mémoire. Il a été montré que la *PKA* peut moduler les canaux potassiques (Zhou, Wang et al., 2002) calcium dépendant, mais aussi la libération de neurotransmetteur via le Ca<sup>2+</sup> (Yoshihara, Suzuki et al., 2000). De nombreuses études ont fait également le lien entre la *PKA* et la plasticité synaptique (Baines 2004; Zhang, Duan et al., 2004). Le rôle de l'AMPc apparaît donc central dans la formation des processus mnésiques.

## CREB

Une des cibles majeures phosphorylées par la PKA est le facteur de transcription CREB (*cAMP-Response Element Binding*). Lorsque la PKA phosphoryle CREB, celui-ci se retrouve dans une conformation active et permet l'expression de gène. Le gène CREB est complexe et code *via* un épissage alternatif pour sept différentes isoformes (Yin, Del Vecchio et al., 1995; Yin, Wallach et al., 1995). Une isoforme putative, dCREB2-a, est prédictive pour être un activateur transcriptionnel, alors qu'une autre isoforme, dCREB2-b, serait au contraire dominant négatif quant à l'expression des gènes cibles de CREB via son activation par la PKA.

Des mouches transgéniques, contenant l'isoforme dCREB2-b sous le contrôle d'un promoteur inducible, ont montré un effacement de la mémoire à long terme dépendante de la synthèse protéique (Yin, Wallach et al., 1994). Il y aurait un blocage de la forme activatrice empêchant ainsi la mise en place de la mémoire à long terme. Ces expériences ont été reproduites plus tard, confirmant le rôle suppresseur de mémoire de l'isoforme dCREB-b (Perazzona, Isabel et al., 2004). Néanmoins il avait été initialement rapporté que la sur-

expression de la forme activatrice – toujours sous le contrôle d'un promoteur heat-shock inductible- conduisait à une amélioration de capacités mnésiques de la mouche. Les auteurs de cet article ont rapporté que ces mouches transgéniques étaient capables de produire de la mémoire à long terme, après des protocoles censés engendrer uniquement de la mémoire à court terme. Ces résultats sont aujourd'hui controversés. La même équipe ayant reproduit les expériences avec l'isoforme répressive n'a pu reproduire les résultats avec l'isoforme activatrice (Perazzona, Isabel et al., 2004). Une analyse plus en détail du transgène a révélé un codon stop dans le cadre de lecture. Aucune protéine fonctionnelle ne peut être produite avec ce transgène, ce qui laisse planer de sérieux doute sur les résultats antérieurs. De plus les modèles moléculaires qui prenaient en compte ces données n'ont toujours pas été remis à jour.

### **Amnesiac (*amn*) et les DPM**

Un lien supplémentaire concernant l'implication de la voie de l'AMPc a été effectué avec l'identification du mutant *amnesiac amn* (Quinn, Sziber et al., 1979). Ce mutant, *amn19A*, a été identifié lors d'un crible, en condition dominante, de restauration de la fertilité femelle de *dunce*. À cette époque, le locus du gène *amn* fut initialement cartographié sur le chromosome X, mais sa caractérisation restait élusive. Ce n'est qu'en 1995 que son identification moléculaire fut effectuée lors d'un crible comportemental grâce à une lignée dont l'insertion de l'élément P empêcha toute complémentation avec le mutant *amn*. L'analyse moléculaire montra que le gène *amn* codait 3 neuropeptides putatifs, ayant une homologie avec un peptide activant l'adénylate cyclase (*PACAP, pituitary adenylyl-cyclase activating peptide*) (Feany and Quinn 1995). Un mécanisme général de régulation de l'AMPc fut immédiatement suggéré par Eric Kandel. Avec les découvertes de *rut*, *amn*, et *dnc*, tous les 3 impliqués dans la régulation de l'AMPc, il proposa un modèle où le neuropeptide *amn* modulerait le niveau d'AMPc via une protéine G couplé à une protéine réceptrice qui agirait sur l'adénylate cyclase *rut* (Kandel and Abel 1995).

En 2000, l'équipe de Waddell démontre que l'expression de *amn* est restreinte au niveau de seulement deux neurones, les neurones dorsaux associés médians (Dorsal Pair Neuron ou DPM) (Waddell, Armstrong et al., 2000). Conduire seulement l'expression d'un transgène *amn* au niveau de ces neurones était suffisant pour restaurer le phénotype sauvage. Ils démontrent également que bloquer la neurotransmission de ces neurones en utilisant le

transgène thermosensible *Shi<sup>ts</sup>* durant la période de consolidation permettait de copier le phénotype du mutant *amn* (Waddell, Armstrong et al., 2000). Cette découverte permit de mettre en avant le rôle de DPM dans les processus mnésiques de la drosophile, et de ne plus seulement se focaliser sur les corps pédonculés. En parallèle, d'autres équipes travaillant sur *amn*, démontrent qu'exprimer *amn* tout au long du développement sauve également le défaut de mémoire (DeZazzo, Xia et al., 1999), alors qu'activer le transgène uniquement au stade adulte ne le sauve pas. Le gène *amn* est donc indispensable au cours du développement, mais est peut-être également requis à l'état adulte. La dynamique de son expression reste encore à élucider.

## NF1

Chez l'homme, des mutations dans le gène de la neurofibromatose 1 sont responsables de tumeurs du système nerveux et de défauts d'apprentissage. Le gène codé est une protéine activatrice de *ras* GTPase (Xu, Lin et al., 1990). Chez la drosophile, l'homologue de NF1 est requis pour l'activation de l'adénylate cyclase *rut* via le peptide PACAP38, ce qui suggère un double rôle pour cette protéine, régulant de concert les voies *ras* et de l'AMPc (Guo, The et al., 1997). À partir de ces découvertes NF1 fut considéré comme un mutant potentiel de mémoire et fut testé comportementalement. Les individus déficients pour NF1 présentent des défauts de mémoire à court terme, qui peuvent être sauvés par l'expression d'un transgène NF1 ou par la surexpression de la sous unité catalytique de la PKA constitutivement active. Ce dernier point permet de mettre en évidence que les défauts mnésiques observés chez les mutants NF1 peuvent être dûs à un défaut de transduction du signal dans la voie de l'AMPc (Guo, Tong et al., 2000). Néanmoins la relation de NF1 avec la voie *ras* et le rôle de celle-ci dans la mémoire reste à prouver, de même qu'un rôle éventuel au niveau des corps pédonculés.

### **b- Les molécules d'adhésion cellulaire et les récepteurs membranaires**

#### **Volado (Vol)**

La découverte de *volado* comme mutant de mémoire à court terme a permis de mettre en évidence le rôle des molécules d'adhésion cellulaire dans les mécanismes d'apprentissage. Ce gène code une sous unité de l'intégrine  $\alpha$  (Grotewiel, Beck et al., 1998).

*Vol* a été identifié sur la base de son expression préférentielle au sein des corps pédonculés. Le phénotype mutant a pu être sauvé lors d'expériences de sauvetage en exprimant *volado* juste avant le conditionnement. Néanmoins, la localisation exacte où la protéine est requise n'est pas encore déterminée. *Vol* a également été mis en évidence pour réguler la transmission synaptique et la plasticité au niveau de la jonction neuromusculaire chez la larve (Rohrbough, Grotewiel et al., 2000).

### **Fasciclin II (Fas II)**

*FasII* est la seconde molécule d'adhésion cellulaire découverte pour avoir un rôle dans la mémoire. Il a été identifié pour son expression préférentielle au niveau des corps pédonculés. Le crible comportemental a mis en évidence un défaut de mémoire à court terme. Bien qu'ayant un rôle important au cours du développement, l'induction d'un transgène par choc thermique, chez des individus mutants, avant l'apprentissage, permet un retour au phénotype sauvage. L'activation de ce transgène à un autre moment reste sans effet, suggérant ainsi un rôle de *FasII* uniquement lors de la formation de la mémoire et pas lors de la consolidation ou de la restitution (Cheng, Endo et al., 2001). *FasII* est un homologue du gène ApCAM chez l'aplysie qui est impliqué dans la plasticité synaptique (Martin and Kandel 1996). De plus, les variations de concentration de FasII régulent la plasticité pré-synaptique (Schuster, Davis et al., 1996). La protéine est fortement exprimée aux niveaux des lobes  $\alpha/\beta$  et plus faiblement au niveau des lobes  $\gamma$ . Il reste néanmoins à déterminer si la fonction de FasII dans la mémoire à court terme est bien localisée au niveau des corps pédonculés.

### **Notch (N)**

Du nématode à l'homme, les récepteurs transmembranaires de la famille *Notch* (N) agissent tout au long du développement embryonnaire et post-embryonnaire pour contrôler l'acquisition et le maintien d'un état différencié. Les récepteurs *Notch* sont connus pour participer à un large éventail de fonction et de voies de signalisation, allant de la spécification cellulaire via l'inhibition latérale, ou de la régulation de cônes de croissance. Plus de 1800 articles relatent les différents effets de mutation sur le gène *Notch* et des phénotypes qui en découlent, uniquement sur la drosophile. *Notch* est activé par le clivage de son domaine cytoplasmique via une activité gamma-secretase, effectué par la protéine PS1, composante

des présénilines. C'est cette même activité gamma-secretase, qui coupe la protéine APP au niveau C-terminal du peptide Abeta via PS1. Ainsi, il est possible d'envisager un lien entre un dysfonctionnement de la voie *Notch*, et la perte de mémoire observée chez les individus affectés par la maladie d'Alzheimer. *Notch* ainsi fait l'objet d'étude pour un rôle éventuel dans la mémoire. Des mutations thermosensibles de *notch* sont sans effet sur la mémoire à court terme, mais affectent la mémoire à long terme après un conditionnement espacé (Ge, Hannan et al., 2004; Presente, Boyles et al., 2004). De plus des allèles plus fort de *Notch*, dominant négatif, n'affecte pas la mémoire après un conditionnement massé. *Notch* semble donc impliqué uniquement dans la mémoire à long terme nécessitant la synthèse protéique. La surexpression de *Notch* entraîne une augmentation de la mémoire à 24h après un seul cycle de conditionnement. Cet effet est bloqué lorsqu'un inhibiteur de synthèse protéique est donné ce qui démontre encore le rôle de *Notch* dans la mémoire dépendante de la synthèse protéique(Ge, Hannan et al., 2004). Enfin, l'inhibition de *Notch*, via un RNAi uniquement au niveau des corps pédonculés, conduit à un défaut de mémoire à long terme, ce qui montre le rôle de *Notch* au niveau du site anatomique de mémorisation.

*Notch* est le représentant d'une nouvelle classe de molécules impliquées dans la mémoire à long terme. Bien que les mécanismes reliant *Notch* aux phénomènes de mémorisation restent à découvrir, il n'en reste pas moins un champ d'étude extrêmement intéressant, surtout aux vus de ses relations avec la maladie d'Alzheimer.

### **c- Les autres gènes**

#### **PKM atypique (aPKM)**

Les isoformes atypiques des kinases PKC ont contrairement aux autres kinases conventionnelles une activité qui est indépendante du calcium ou de diacylglycérol. Des études d'électrophysiologie, concernant la potentialisation à long terme chez le rat, font état d'une augmentation de l'activité de la PKM durant la phase de maintenance de la potentialisation à long terme, d'une baisse de cette activité durant la phase de dépression, et un recrutement (Sacktor, Osten et al., 1993). Drier el al. en 2002 ont par la suite examiné son rôle dans la formation de la mémoire chez la drosophile (Drier, Tello et al., 2002). Ils ont démontré que l'induction, peu de temps après un conditionnement massé, d'un transgène contenant la version murine ou de drosophile de la PKM, augmentait la mémoire à un niveau

équivalent à celui du conditionnement espacé. Ces transgènes sont néanmoins sans effet après un protocole espacé. L'inactivation de la protéine, soit par transgénèse, soit par des inhibiteurs spécifiques, a montré une baisse de la rétention mnésique après un conditionnement massé. Ces résultats mettent en évidence un rôle de la PKM dans la maintenance de la mémoire. D'autre part son abondance ou son activité après apprentissage est un facteur déterminant pour l'efficacité de l'apprentissage, comme en témoigne l'amélioration des scores de mémoire lors d'expérience de surexpression. Bien que le rôle physiologique normal de PKM atypique dans la mémoire consolidée ne soit pas encore à établi, celle-ci semble jouer un rôle important dans les processus mnésiques et semble être impliquée dans la stabilité de la mémoire en conditions physiologiques et la plasticité synaptique.

### **Leonardo (leo)**

Le gène *leonardo* a été découvert au cours d'un crible, en se basant sur le patron d'expression restreint au niveau des corps pédonculés (Skoulakis and Davis 1996). Le gène affecté code une protéine appartenant à la famille 14-3-3. Les protéines 14-3-3 forment une famille ubiquitaire très conservée composée de 7 isoformes, sans activité enzymatique, formant des homodimères ou des hétérodimères. Ces dimères peuvent se lier à plus de 60 protéines différentes. Ceux-ci s'adhèrent plus ou moins fortement lorsque certaines séquences d'acides aminés spécifiques sont phosphorylées. Les protéines 14-3-3 peuvent alors s'associer à des protéines impliquées au niveau du cycle cellulaire, à des protéines des voies de signalisation, à des protéines de la réponse aux stress (dont l'apoptose), à des facteurs de transcription. Les liaisons à la 14-3-3 peuvent influencer : (1) les interactions entre les protéines, (2) la localisation cytoplasmique ou nucléaire des protéines, (3) la distance entre deux protéines, (4) l'activation ou l'inhibition de leur activité catalytique et (5) la déphosphorylation et/ou la protéolyse (Bridges D et Moorhead GBG, 2004). Les mutants *leo* ont un défaut d'apprentissage, impliquant les voies de signalisation des MAPKs (*Mitogen Activated Protein Kinases*) ou de la protéine kinase C (Skoulakis and Davis 1996). De plus ces mutants ont des défauts de transmission synaptique au niveau de la jonction neuromusculaire, mais aussi des défauts post tétanique de potentialisation et des réminiscences de défaut de la voie de l'AMPc (Broadie, Rushton et al., 1997). Ce dernier point peut être dû à une potentielle interaction avec le canal potassium *Slowpoke* (Zhou,

Schopperle et al., 1999; Zhou, Reddy et al., 2003). Enfin en 2001 un transgène activé seulement à l'état adulte a permis de sauver le défaut comportemental (Philip et al., 2001).

## Nalyot

*Nalyot* code un facteur de transcription *Adf1* relié à Myb. Ce dernier est un complexe qui a des rôles dans l'activation et la répression de nombreux gènes de développement, dont les mutations entraînent pour l'équivalent murin des tumeurs. Les mutants *nalyot* présentent une légère baisse de la mémoire à court terme, mais un important défaut dans la mémoire à long terme. D'un point de vue anatomique, des études au niveau de la jonction neuromusculaire ont montré des défauts de croissance synaptique. Enfin la surexpression d'*Adf1* au stade adulte entraîne un défaut de mémoire (DeZazzo, Sandstrom et al., 2000).

## Radish (rsh)

*Radish* a été découvert au cours d'un crible comportemental dans le laboratoire de Quinn en 1993. Après un cycle d'apprentissage, bien que la mémoire à court terme soit normale, il présente des défauts mnésiques quelques heures plus tard. En effet, une heure après conditionnement les mutants *radish* ne sont pas différents des contrôles, alors que six heures plus tard ils présentent un score de 0. Ils sont assez proches d'un point de vue phénotypique des mutants *amn*, bien que ces derniers retiennent mieux six heures après apprentissage. De plus il s'agit d'une mutation semi-dominante. Les individus hétérozygotes pour *radish* présentent des scores intermédiaires, entre les individus sauvages et homozygotes pour *radish*. Enfin, et c'est le point le plus important, il s'agit d'un mutant spécifique de l'MRA, mémoire qui perdure après application d'un choc par le froid, à l'inverse des mutants *amnesiac* qui sont déficients pour la mémoire sensible à l'anesthésie par le froid (Folkers, Drain et al., 1993). Lorsque des animaux subissent un choc par le froid, 2h après un conditionnement classique, et sont testés 1h plus tard –soit 3h après apprentissage- ceux-ci présentent des scores de mémoire plus faible que des contrôles non anesthésiés. Une partie de la mémoire présente à 2h est déjà consolidée sous une forme stabilisée, résistante au froid, et une partie est encore labile. Or chez les mutants *radish*, cette mémoire pseudo-consolidée est abolie, suggérant un rôle du gène *radish* dans un processus de consolidation (Folkers, Drain et al., 1993; Tully, Preat et al., 1994).

L'équipe dirigée par Folkers et Quinn a identifié le gène *radish* récemment (Folkers et al., 2006). Ils ont directement cherché par bioinformatique les cadres de lecture incorrects chez les individus *radish*, aux alentours de la mutation. Ils ont alors identifié un nouveau gène ayant une mutation ambre, CG15720. Ils ont dans un premier temps fabriqué un anticorps polyclonal contre la protéine et observé un marquage au niveau des lobes des corps pédonculés, marquage absent chez les mutants *rsh*. Enfin ils ont construit un transgène contenant la protéine codée par le gène CG15720. L'induction de son expression par un choc thermique chez des mutants *rsh* permet de sauver le phénotype. La protéine identifiée présente de nombreux sites de phosphorylation et semble se lier avec Rac1, une GTPase impliquée dans les réarrangement du cytosquelette (Formstecher et al., , 2005).

### **La voie Staufen/Pumilio**

En 2003 l'équipe de Tim Tully procéda à un large criblé dans le dessein d'identifier de nouveaux gènes de mémoire à long terme. Son équipe utilisa pour cela 2 méthodes. La 1<sup>e</sup> méthode a été un criblé comportemental, en recherchant des lignées présentant des défauts de mémoire à 24h. La 2<sup>e</sup>, basée sur le concept de la synthèse protéique, est un criblage de gènes présentant des variations d'expression après conditionnement. Ils mirent ainsi plusieurs gènes en évidence, dont la fonction est la localisation des RNAm (Dubnau, Chiang et al., 2003) Pumilio, un inhibiteur de traduction, a été identifié via ces deux approches. Les autres gènes ont été identifiés grâce à l'analyse de puces à ADN. Parmis ceux-ci, on trouve *staufen* (*stau*), impliqué dans la translocation de l'RNAm ; *moesin*, une protéine liant l'actine jouant un rôle dans la localisation de *stau* ; *orb*, impliqué dans la traduction de l'RNAm une fois que celui-ci a été transloqué et *eIF-2G*, un initiateur de traduction vraisemblablement lié à *orb*. Le criblé comportemental a fait ressortir également *oskar*, gène connu pour la translocation des RNAm dépendants de *stau* et *eIF-5C*, un autre initiateur de traduction. Les mutations de *stau*, *pum*, *oskar* et *eIF-5C* ont pour conséquence un défaut de MLT. Ces résultats rejoignent l'idée que la translocation des RNAm et une traduction locale sont des processus importants dans l'établissement de la MLT.

Néanmoins, il est possible de se questionner sur la véracité du criblé via l'analyse de puces à ADN. En effet, le contrôle utilisé est un pool d'ARN extrait de mouches conditionnées après un protocole massé. Bien que ne générant pas de mémoire à long terme nécessitant la synthèse protéique, ce type de conditionnement induit potentiellement un stress

beaucoup plus important du fait du rapprochement des cycles d'apprentissage. Le risque est alors d'avoir identifié des protéines liées au stress et de biaiser l'analyse.

## **Le complexe RNAi**

La calcium/calmoduline dépendante kinase II ou CAMKII est un effecteur important dans la voie de signalisation du calcium. Cette dernière est impliquée dans la plasticité synaptique chez les mammifères (Kelleher, Govindarajan et al., 2004). En conduisant l'expression d'une CAMKII « taguée » au niveau des neurones projections qui relient le système olfactif aux corps pédonculés, l'équipe du Dr Ashraf a démontré le recrutement de la CAMKII au niveau post-synaptique des glomérules des lobes antennaires. En reproduisant l'expérience dans différents contextes, ils ont ainsi démontré l'intervention du complexe RISC dans la régulation synaptique de la synthèse protéique (Ashraf, McLoon et al., 2006).

## **Nebula (*nla*)**

Chez l'Homme, le syndrome de Down est la plus importante cause de retard mental. La région spécifique du chromosome 21 est liée à plusieurs phénotypes de cette pathologie. Un gène de la famille des calicipressines est situé dans cette région, il s'agit de DSCR1 (*Down's Syndrome Critical Region 1*) ; ces protéines inhibent la calcineurine ayant un rôle connu dans l'apprentissage et la mémoire chez la souris (Mansuy 2003). En 2003, Chang et ses collaborateurs ont cherché à démontrer son implication dans l'apprentissage et la mémoire chez la drosophile. Les auteurs de cette étude ont générée des mutations dans le gène *nla*. Une baisse de 50% du transcrit de ce gène entraîne une chute de mémoire. Ils purent sauver le phénotype en exprimant un transgène *nla* dans les lobes  $\alpha/\beta$  des corps pédonculés, en utilisant un promoteur spécifique. De plus, dans le cadre de trisomie chez l'homme, le produit du gène *nla* est surexprimé. Lorsque l'on surexprime l'homologue chez la drosophile, on observe des défauts de mémoire olfactive, mimant ainsi le phénotype humain. De plus, ce dernier comportement est spécifique de l'état et donc d'un rôle dans la mémoire puisque l'on retrouve les mêmes effets en induisant la surexpression uniquement à l'état adulte (Chang, Shi et al., 2003).

Affecter le gène *nla* entraîne plusieurs effets sur d'autres protéines déjà connues et impliquées dans les processus mnésiques. En effet, chez les individus *nla*, les auteurs ont observé une augmentation du niveau de calcineurine, une baisse de l'activité de 50% de la PKA, et une baisse du niveau de phosphorylation de CREB. L'ensemble de ces données démontre le rôle de l'homologue de DSCR1, *nebula*, dans la mémoire olfactive chez la drosophile. Ces effets semblent également avoir lieu au niveau des lobes  $\alpha/\beta$  des corps pédonculés.

### Crammer (*cer*)

En 2004, l'équipe de Thomas Préat a entrepris un crible comportemental qui suivait un 1<sup>er</sup> crible d'expression. Après avoir identifié des lignées P-Gal4 dont l'expression était au moins au niveau des corps pédonculés, ils leur firent passer un crible comportemental de mémoire à long terme. Ils identifièrent une lignée dont l'élément-P était inséré entre deux gènes, et qui présentait un défaut spécifique de mémoire à long terme. Après comparaison par RT-PCRq de l'expression des 2 gènes, ils identifièrent le gène CG10460 comme étant responsable du phénotype perte de mémoire (Comas, Petit et al., 2004). *Cer* code une protéine ayant une similitude de séquence avec les régions N-terminales des cathepsines ; ces protéines sont normalement synthétisées sous forme de proenzymes avec une région amino-terminale inhibitrice. Il a donc été hypothéqué un rôle de trans-inhibiteur de cathepsine pour *Cer*. Il s'avéra à la suite d'expériences de biochimie que *Cer* inhibe les cathepsines L et B *in vitro*. Ils purent par la suite sauver le phénotype par l'induction d'une copie de la région génomique de *Cer* dans l'ensemble du cerveau. Ils montrèrent que cette même induction dans un contexte sauvage générait des défauts de mémoire à long terme. Cet effet n'est pas dû à un rôle dans les corps pédonculés mais plutôt dans les cellules gliales. Cependant, il est difficile de conclure quant à un effet sur le développement des cellules gliales ou plutôt une perturbation de la physiologie permettant la mise en place de la mémoire à long terme. Néanmoins, le niveau d'expression de *cer* diminue trois heures après un conditionnement espacé. La mise en évidence du rôle de *cer* dans la mémoire démontre que de nombreux autres acteurs cellulaires et moléculaires sont impliqués dans la MLT.

### Les synapsines

Les synapsines sont des protéines associées à des vésicules synaptiques et à des phosphoprotéines et qui sont impliquées dans de nombreuses fonctions chez les vertébrés. Cela inclut l'elongation neuronale, la formation de synapse et la régulation de la libération synaptique (Ferreira and Rapoport 2002). Il existe 3 isoformes chez les vertébrés, dont chaque délétion unique entraîne un développement anormal de la plasticité synaptique. Chez la drosophile une seule de ces isoformes est présente. Son altération ne génère pas de défaut structural ou de structure synaptique, mais différents comportements semblent altérés (Godenschwege, Reisch et al., 2004). De plus les mutants *syn* présentent une meilleure tolérance à l'éthanol, ce qui est un phénotype observé chez de nombreux mutants de la voie de l'AMPc. Ces mutants présentent également un défaut de mémoire à 3min, suggérant ainsi que la plasticité est régulée en partie au niveau de la libération des neurotransmetteurs.

## **S6KII**

Les kinases ribosomales S6 sont une famille protéique impliquée dans de nombreuses fonctions cellulaires telles que la synthèse protéique, ou la survie cellulaire. Ils sont également impliqués dans des mécanismes de plasticité synaptique et de comportement nécessitant la voie ERK/MAPK (Frodin and Gammeltoft 1999; Impey, Obrietan et al., 1999). S6KII est un membre de cette famille. Au cours d'un crible comportemental, (Godenschwege, Reisch et al., 2004) en 2004 ont isolé S6KII comme un gène important pour l'apprentissage. En effet, lorsque ce gène est muté les drosophiles présentent de faibles performances d'apprentissage après un cycle.

## **Latheo (*lat*)**

*Latheo (lat)* a été le premier mutant isolé suite à une mutagenèse à l'élément P sur un cible comportemental (Boynton and Tully 1992). Il n'a été caractérisé que quelques années plus tard et code un composant du complexe de reconnaissance des origines de réPLICATION (Pinto, Quintana et al., 1999). Les mutants *lat* présentent des défauts structuraux. Ainsi les corps pédonculés apparaissent plus petits, ce qui laisse à penser qu'il s'agit de défaut de développement. La protéine *lat* a été mise en évidence au niveau des synapses des moteurs neurones, ce qui peut expliquer les défauts de transmission synaptiques et de plasticité observés au niveau de la jonction neuromusculaire (Rohrbough, Pinto et al., 1999). Le rôle

d'un composant de reconnaissance des origines de réPLICATION est encore obscur actuellement, et le mécanisme qui exerce un effet sur le fonctionnement des synapses reste encore à découvrir.

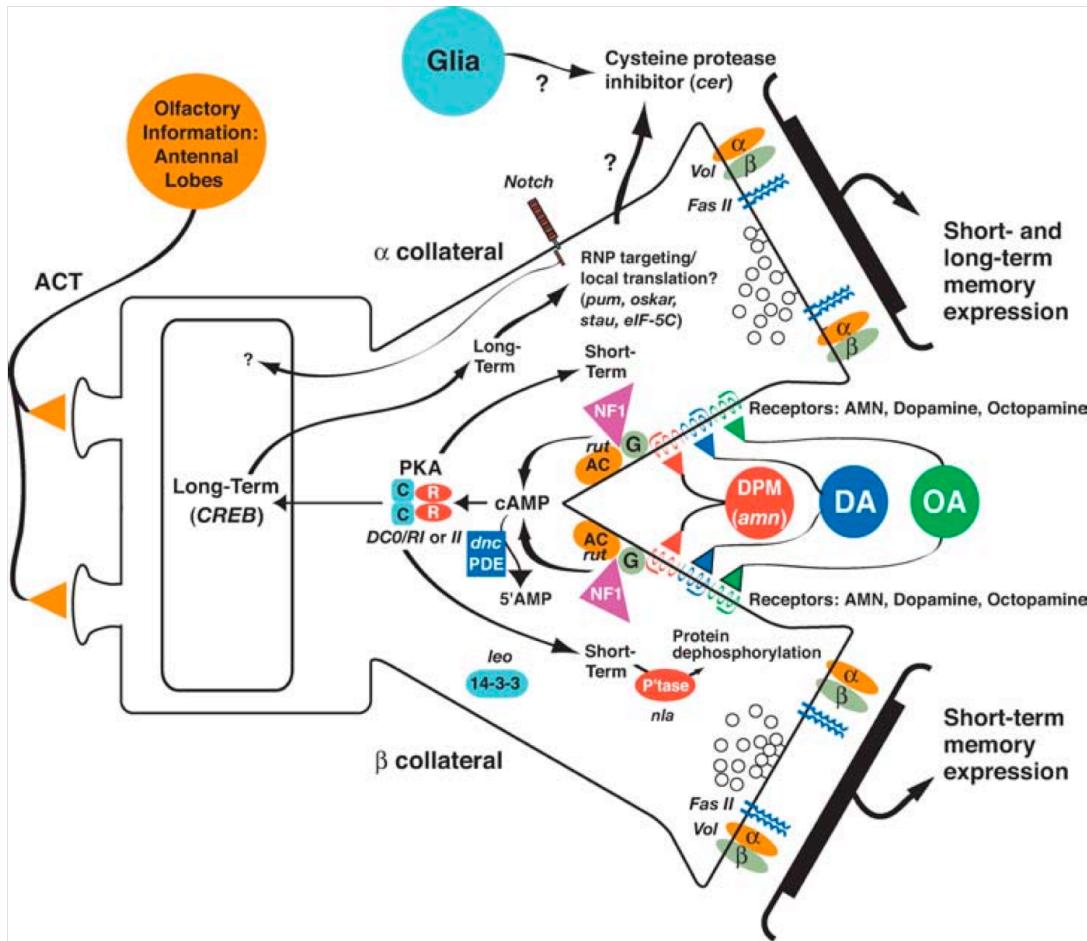
### **Linotte (lio)**

Linotte est également un autre mutant identifié à partir d'un crible comportemental suite à une mutagenèse à l'élément-P (Dura, Preat et al., 1993). *Lio* code un allèle du récepteur tyrosine-kinase *derailed* (Moreau-Fauvarque, Taillebourg et al., 1998; Simon, Boquet et al., 1998). Des défauts développementaux ont été observés au niveau des corps pédonculés, qui peuvent être sauvés par l'induction du récepteur tyrosine-kinase.

### **Tequila (teq)**

Certains retards mentaux non syndromiques sont associés à des mutations au niveau de gène codant la neurotrypsine (Molinari, Rio et al., 2002). Une importante question était de savoir si le retard mental observé était du à un défaut de développement du cerveau ou bien était la conséquence d'un défaut de plasticité synaptique. Pour répondre à cette question, les chercheurs ont utilisé l'homologie homme/drosophile pour ce qui est des gènes de la neurotrypsine, et ainsi profité des outils génétiques que cet organisme modèle propose. L'homologue drosophilien de la neurotrypsine est une sérine protéase, codée par le gène *teq*. Un mutant constitutif pour ce gène présente des défauts de MLT uniquement. Pour répondre à la question, est-ce que le retard mental observé chez l'homme était-il du ou non à un défaut de développement, les chercheurs de l'équipe de Thomas Préat ont construit un RNAi spécifiquement dirigé contre le gène *Teq* au niveau des corps pédonculés et uniquement à l'état adulte en utilisant le système Gene Switch. Dans ce contexte, les mémoires à court et moyen terme sont normales, alors que la MLT est abolie. *Teq* est donc requis pour la mise de la mémoire à l'état adulte. De plus grâce à des expériences de RT-PCRq, sur des mouches conditionnées, les chercheurs ont pu observer la variation d'expression du gène *teq* après conditionnement. La quantité d'RNAm de *teq* augmente d'un facteur 30, 4h après conditionnement. Enfin, inhiber l'expression de *Teq* avant l'apprentissage est sans effet sur la mémoire, ce qui montre que le défaut de MLT est réversible si *Teq* est naturellement exprimé *de novo* après une extinction artificielle (Didelot, Molinari et al., 2006).

Grâce à l'identification de ces gènes, un modèle de formation de la mémoire olfactive est proposé, et présenté sur le schéma 10.



**Figure 10 :** Modèle cellulaire et moléculaire de formation de la mémoire olfactive chez la drosophile

Les informations olfactives, ou stimulus conditionné, sont transmises depuis les lobes antennaires aux corps pédonculés via les neurones de projections. Le stimulus de renforcement est projeté sur les corps pédonculés via les neurones dopaminergiques. La coïncidence de ces événements est détectée de manière synergique par l'activation de Rut, grâce à des protéines G via NF1, et des influx calciques qui génèrent une augmentation de cAMP dans la cellule. La modulation du taux de cAMP par Dnc entraîne ou non l'activation de la PKA, qui phosphoryle un certain nombre de substrats impliqués dans la MCT. La modulation des taux de phosphorylation par Neb est importante pour la MCT, ainsi que les protéines FasII, Vol, ou encore Leo. Le passage de la MCT vers la MTM nécessite un signal persistant de Amn depuis les DPM. La formation de la MRA implique Rsh dont le circuit n'est pas encore connu. Un certain niveau de phosphorylation de la PKA conduit à une translocation de cette dernière dans le noyau, ce qui conduit à l'activation de CREB. Il y a alors expression de gène et translocation d'RNAm via Stau et Oskar. Enfin il peut y avoir remodelage des connections synaptiques par Cer (Davis 2005).