

Historique du concept de mémoire

1. Définition et premières considérations

Dans le sens commun, la mémoire est l'aptitude à conserver et à restituer des choses passées. C'est une représentation sous une forme mentale, du dispositif permettant de stocker des informations. La mémoire désigne à la fois la capacité d'un individu ou d'un groupe humain de se souvenir de faits passés et ce souvenir lui-même. Mémoriser implique donc à la fois une capacité d'apprentissage, de stockage, et de restitution de l'information apprise. La mémoire a longtemps été considérée comme l'une des facultés principales de l'esprit humain, et réservée à l'homme.

a- Descartes ou les règles pour la direction de l'esprit

René Descartes s'intéressa aux moyens d'accéder à la connaissance dans son ouvrage "Les Règles pour la Direction de l'Esprit". Il s'agit d'une œuvre inachevée où il expose les règles qui selon lui permettent de diriger l'esprit. Elles sont au nombre de 21, et mentionnent à plusieurs reprises la mémoire. C'est avant tout une des ressources de l'intelligence humaine qui, au même titre que l'imagination, l'intuition et la déduction, se doit d'être travaillée pour accéder à la connaissance.

Exemple : règle douzième

*« Enfin il faut se servir de toutes les ressources de l'intelligence, de l'imagination, des sens, de la **mémoire**, pour avoir une intuition distincte des propositions simples, pour comparer convenablement ce qu'on cherche avec ce qu'on connoît, et pour trouver les choses qui doivent être ainsi comparées entre elles ; en un mot on ne doit négliger aucun des moyens dont l'homme est pourvu. »*

Pour Descartes, la mémoire est un moyen dont l'homme a à sa disposition pour mieux comprendre le monde qui l'entoure et dans lequel il vit.

Mais pour les philosophes qui s'intéressèrent par la suite à la notion et la nature de l'esprit, la mémoire n'était pas qu'un don du ciel.

« Il n'y a rien de plus immédiatement donné que la Conscience, Conscience qui signifie d'abord mémoire, c'est-à-dire synthèse temporelle, conservation du passé, et anticipation de l'avenir. » Bergson

b- Bergson ou le problème du corps et de l'esprit

À la fin du XIXe siècle, Bergson s'interrogeait sur la dualité du corps et de l'esprit et traite de la question de la mémoire. Bien que ce problème existe presque depuis l'origine de la philosophie (Platon, Aristote...), Bergson en a fait une question centrale, voir fondamentale de la philosophie de l'esprit. Dans son ouvrage « Matière et Mémoire » de 1896, il explore les fonctions du cerveau et entreprend une analyse de la perception et de la mémoire et propose des considérations sur les problèmes de la relation entre l'esprit et le corps. Pour Bergson l'analyse de la mémoire est un moyen de trancher ce problème entre processus mentaux et corporels. Il considère alors que la mémoire est profondément spirituelle, et que le cerveau ne se contente que d'orienter la mémoire vers l'action présente. Le cerveau insère des souvenirs dans le présent en vue de l'action. Le cerveau n'a alors qu'une fonction pratique tandis que le corps est le centre de l'action. Pour Bergson, les lésions du cerveau n'abîment pas le souvenir, ni la mémoire, mais perturbent la fonction pratique du cerveau. Les souvenirs ne peuvent dès lors plus être « incarnés » par l'action. Ils existent toujours, mais ils sont impuissants. En effet, le cerveau ne remplit plus sa fonction, on ne peut donc pas utiliser ces souvenirs.

Dans son ouvrage "Essai sur la relation du corps à l'esprit", Bergson analyse le problème classique de l'union de l'âme et du corps. Ce livre est écrit en réaction à "Maladies de la mémoire" de Théodule Ribot, paru en 1881. Ce dernier soutient que la science du cerveau prouve que le souvenir est logé dans une partie du système nerveux. Le souvenir serait localisé dans le cerveau, il serait donc matériel. Bergson s'oppose à cette réduction de l'esprit à la matière. Néanmoins en cette fin de XIXe siècle, les chercheurs Ribot et William James spécialisés en biochimie furent les premiers à tenter de déterminer en laboratoire de manière scientifique quels étaient les supports de la mémoire. Ils furent en cela très influencés par la théorie de la mémoire organique.

2. De la mémoire organique à l'étude organique de la mémoire¹

Les origines du concept de mémoire organique datent du XVIII^e siècle. Pour Maupertuis par exemple, les semences sont faites de particules provenant de tout le corps (théorie de la pangénèse), et possèdent entre elles certaines affinités. Ainsi le développement d'un fœtus est le résultat de l'attraction de certaines particules. Pour Maupertuis, ces molécules sont dotées de propriétés psychiques, conservant en elle le souvenir de leur situation. Elles savent en elles ce qu'elles doivent faire (Maupertuis, *Système de la Nature*, 1754).

Au XVIII^e siècle, en analogie avec les découvertes de Newton, il est considéré que les différentes modifications au sein d'un organisme sont le résultat de vibrations. Le cerveau étant un organe fibreux, ses modifications mémorielles sont donc représentées par des vibrations en son sein. Pour Ewald Hering, la mémoire est alors un principe fondamental de la nature, « fonction essentielle de la matière organisée » (Hering, 1870), commun à tous les êtres vivants. Hering rejoint de ce fait la théorie de la pangénèse, car pour lui la mémoire est incluse dans chacune des cellules et permet la transmission des caractères. Sa théorie est confortée par de nombreux confrères tel Edward Cope, adepte de la théorie de l'embryogénèse, qui expliquait l'évolution d'une espèce par le développement de l'embryon. On parle à l'époque de mémoire organique de l'hérédité ou comme pour Haeckel de « loi de la recapitulation ». Ainsi évolution et mémoire sont intimement liées. Le physiologiste Ewald Hering résume ce concept de mémoire organique en qualifiant la mémoire de « fonction universelle de la matière organisée ».

Ainsi mémoire et conscience sont reliées aux caractéristiques même des espèces. L'explication la plus poussée a été proposée par le biologiste allemand Ernst Haeckel dans son ouvrage "Les énigmes de l'univers". Haeckel résuma ainsi son concept en expliquant que « seuls les plastidules vivants, molécules individuelles du plasma actif, se reproduisent et

¹ Cette partie a été inspirée par les ouvrages de Schacter (Schacter, D. L. ; 2001 ; et Schacter, D. L., Eich, J. E., and Tulving, E. ; 1978) et des études de Jean-Claude Dupont. Le premier nommé y rend hommage aux pionniers de la science de la mémoire, et replace les différents concepts établis dans leur contexte historique. Le second est l'auteur d'une analyse historique et épistémologique des neurosciences. (J.-C. Dupont (2003) "Modèles biologiques de la mémoire: éléments d'épistémologie et d'histoire". Dans "Nouveaux débats sur le vivant", M-C Maurel, P-A Miquel (eds), Paris: Kimé).

possèdent ainsi la mémoire ». La mémoire est alors intrinsèquement organique. Elle se présente sous la forme d'entités microscopiques, composantes de toutes les fibres et en particulier des fibres nerveuses au sein du cerveau. Grâce à cette situation ubiquitaire, la mémoire contrôle le devenir et le développement des individus.

Ces premières considérations sur la mémoire font alors office de dogme. Il s'agit d'une notion trop importante et métaphysique pour l'aborder uniquement par le versant scientifique. Et même si des théories subtiles et proches de ce que nous connaissons aujourd'hui se développent, elles ne s'affranchissent pas du poids du concept de mémoire organique. C'est Richard Semon, naturaliste allemand qui est le premier à développer une psychologie de la mémoire en évoquant les trois étapes clefs des phénomènes de mémorisation : apprentissage, stockage, et restitution. Sa théorie repose sur le « Mneme » qu'il définit comme étant la propriété organique fondamentale qui permet aux effets des expériences de persister dans le temps. Il développe son concept en évoquant l'engramme pour définir un langage codant les nouvelles informations relatives à l'apprentissage, l'engramme pour définir la trace mnésique, et l'ecphorie pour parler de leur restitution. Mais pour Semon, le Mneme est le processus biologique à la base de la mémoire et de l'hérédité. Hérédité et mémoire biologique ne font qu'un, car ils sont constitués des mêmes plastidules. «Le Mneme est la plasticité organique fondamentale qui permet aux effets de l'expérience d'être préservés dans le temps non seulement durant la vie de l'individu mais aussi à travers les générations.»

3. Un ensemble de « connexions ». Les voies nerveuses de Théodule Ribot et Donald Hebb

Pour Théodule Ribot, la « mémoire organique », à la différence de celle de Hering, est surtout une fonction biologique du système nerveux. Il considère qu'il s'agit de « modifications particulières imprimées aux éléments nerveux » et que cela nécessite « une association, une connexion particulière établie entre un certain nombre de ces éléments. » (Ribot T., 1881). Ribot propose un modèle de réseau dynamique qui se rapproche de celui de Donald Hebb.

Pour Hebb, les traces mémorielles correspondent à des circuits dont les connexions (synapses) s'ouvrent et se ferment en fonction de l'expérience (Hebb, 1949). L'apprentissage

résulte de la modification des synapses, et du rappel du passage de l'influx dans les voies particulières concernées. Les théories de Hebb semblent confirmer l'intuition de Richard Semon: les changements plus ou moins définitifs permettant d'emmagasiner les souvenirs ne concernent pas les cellules nerveuses unitaires. C'est la multiplicité des contacts entre ces cellules qui constituent la banque de donnée.

4. Naissance de la biologie de la mémoire

a. Les premières oppositions à la mémoire organique

La première critique adressée à Semon souligne que son hypothèse de l'hérédité comme mémoire reste une simple analogie et n'éclaire pas véritablement la nature des processus. Weissman fait partie des leaders de cette discipline naissante qu'est à cette époque la génétique. Celle-ci s'oppose très vivement au concept de la mémoire organique en lui reprochant de vouloir unifier des processus différents. La génétique tente de localiser matériellement les molécules responsables de l'hérédité qui n'est pas un souvenir. Les engrammes ne sont pas des gènes.

La critique principale faite à Haeckel et à ses disciples est qu'ils aient tenté d'unifier des processus disparates, et placer la biologie au-delà de l'expérimental. Le concept de mémoire organique va alors peu à peu s'effacer au fur et à mesure des expériences et des découvertes.

b. Premières considérations scientifiques sur la mémoire

Les premières expériences scientifiques sur la mémoire qui lui donnèrent un support moléculaire réel furent menées dans les années 60 par les biologistes et psychologues américains James V. McConnell et Thompson. Au début des années soixante, James V. McConnell, étudiant en psychologie, commence à dresser des planaires turbellariés ou plathelminthes. Il s'agit de vers plats sans tête, ni appendice distincts. Il fit apprendre à ses vers à éviter une source lumineuse en l'associant préalablement à un choc électrique, le test consistant à placer ces vers dans un petit appareil avec un côté lumineux et un côté sombre

(Thompson, R. and McConnell C.J.; 1955). Une des propriétés de ces vers est que lorsqu'on les coupe en deux, encore vivant, chacune de ses moitiés se régénère en deux vers complets – une nouvelle tête apparaît chez la moitié queue, et une nouvelle queue apparaît chez la moitié tête. McConnell découvrit alors que lorsqu'un vers a été conditionné à éviter la lumière, si l'on coupe ce vers en deux et qu'on laisse le temps à chacune de ses moitiés de se régénérer, les deux demi-vers présentent une évidente appréhension pour le côté lumineux, ce que McConnell interpréta comme une évidence pour démontrer que, chez le ver, la mémoire ne se localisait pas dans le cerveau. En 1961, il démontra que la moitié-queue pouvait perdre ses informations si elle était mise en présence de RNase. Étant donné la période d'émulations et d'excitations scientifiques de l'époque, – la structure et le rôle dans l'hérédité de l'ADN venaient d'être découvert par Watson, Crick, Wilkins et Franklin en 1953 – nombre de chercheurs se mirent à étudier la fonction de l'ADN ou de l'ARN sur ce que McConnell avait supposé être la « molécule diffuse codant l'information mnésique ». En 1962 McConnell fit une expérience encore plus impressionnante. Il conditionna dans un premier temps des vers qu'il broya et servit comme nourriture à d'autres vers. Il observa alors que ces vers apprenaient beaucoup plus rapidement à éviter l'association lumière-choc électrique, que des vers contrôles, nourris aux vers non entraînés. La logique était que puisque l'ARN code une information et que toutes les cellules vivantes produisent et modifient les molécules d'ARN en réaction aux événements extérieurs, l'ARN était le support de l'information mnésique (McConnell, J. V., 1962). L'ensemble de ces expériences permit à McConnell de poser les bases de son concept de mémoire à ARN (Block, R. A. and J. V. McConnell, 1967). Malheureusement aucun de ses collègues ne put répéter ses expériences. Pire, un biais expérimental fut mis en évidence dans ces expériences. Ces vers laissaient une trace olfactive dans la boîte à test, ce qui incitait les vers suivants à prendre la même direction.

Ainsi la recherche et l'identification de molécule mémoire, basées sur des expériences de transfert, apparurent illusoires, et ces expériences biaisées furent mises sur le compte d'un réductionnisme excessif dû à l'engouement nouveau pour la biologie moléculaire.

C'est à partir de cette période qu'une nouvelle conception de l'approche de l'étude de la mémoire est adoptée. En effet on considérait alors que la mémoire était organique et qu'il fallait chercher son support – unique et multiple à la fois, car il devait représenter chaque souvenir différemment. Mais dès lors de nouvelles considérations se développèrent. Il fallait mener une approche biologique et organique de la mémoire et la considérer comme une entité beaucoup moins tangible que ce que la biologie moléculaire avait fait espérer dans un premier

temps.

Les échecs répétés de ces tentatives conduisirent à une nouvelle période de recherche, qui ne s'intéressant plus aux « Mneme », se focalisa dès lors aux corrélats chimiques des processus de mémorisation au sein du cerveau. Le concept de mémoire organique sera alors progressivement abandonné, car une biologie de la mémoire nécessite l'abandon complet des analogies précédemment effectuées par les penseurs des décennies ultérieures.

5. Les réseaux neuronaux et la plasticité

Donald Hebb est un neurophysiologiste canadien. Il fut à ses débuts très influencé par les travaux de Wolfgang Köhler et les découvertes sur la résolution de problèmes chez les chimpanzés, et de la notion de « insight ». Dans son livre, "The Organization of Behavior", il défend une conception biologique de la psychologie et affirme qu'elle n'est ni plus ni moins que l'étude du système nerveux. Il y expose ses idées sur l'apprentissage et l'association entre les neurones. L'idée principale est que lorsqu'un neurone envoie des messages bioélectriques répétés à un autre neurone, le deuxième neurone devient graduellement plus sensible aux messages du premier.

« When an axon of cell A is near enough to excite B and repeatedly or persistently takes part in firing it, some growth process or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cells firing B, is increased »

Ce qui est souvent paraphrasé par : « *Neurons that fire together wire together* »

"Si 2 cellules sont activées en même temps, alors la force de la connexion augmente."

Cette règle essentielle pour les recherches sur l'apprentissage associatif et la mémoire signifie que lorsque deux neurones interconnectés déchargent ensemble, ils ont tendance à s'associer, et à renforcer leurs interconnexions.

Ainsi l'idée d'un réseau neuronal plastique prend forme au sein de la communauté

scientifique, et les années 60-70 virent apparaître énormément de tentatives de mise en évidence de cette plasticité synaptique. On essaya dans un premier temps de comparer les cerveaux d'animaux ayant appris quelque chose à ceux d'animaux de contrôle. Mais les limites conceptuelles et surtout expérimentales ne permirent pas à ces travaux d'aboutir.

Dès lors plusieurs approches ont été proposées pour éviter une partie de ces obstacles. Les techniques d'empreinte ou d'imprégnation chez les poussins (attachement très profond d'un animal à un parent, un congénère ou à un objet, comportement décrit par Konrad Lorenz en 1970), de sensibilisation ou d'habituation chez l'aplysie ou le chat, ou d'apprentissage simple entre l'association de deux stimulus chez la drosophile... Grâce à ces nouveaux modèles expérimentaux d'importantes découvertes ont été effectuées.

Il a été mis en évidence que chez pratiquement tous les organismes, des applications répétées du même stimulus provoquent une décroissance progressive de la réponse. La réponse peut aussi s'accroître si les stimuli apparemment neutres peuvent s'accompagner d'autres stimuli plus nocifs² ou en fonction de l'intensité des stimuli et de leur espacement. Les études menées par ces chercheurs sur la moelle des vertébrés ont démontré la capacité des neurones à modifier leur fonction d'excitabilité (à augmenter ou à diminuer leur sensibilité à des stimuli particuliers) c'est-à-dire à distinguer et retenir différents stimuli. Dès lors il fallait relier ces modifications fonctionnelles, comportementales, à des modifications morphologiques ou biochimiques. Horn et ses collaborateurs ont découvert que les empreintes mnésiques se caractérisaient par d'importantes augmentations de synthèse d'ARN, et ce dans certaines régions spécifiques. Ces résultats seront confirmés par ceux de Hyden qui démontra que des augmentations d'ARN caractérisent certains types de mémoire (Hyden et al., 1962). Ainsi mémoire et synthèse d'acide ribonucléique vont de pair, et la synthèse protéique est le reflet des modifications de structure des neurones.

Mais dès lors de nouvelles questions se posent. Comment sont générées les nouvelles synapses? Quelles seraient les bases moléculaires de cette plasticité? C'est la théorie chimique de la neurotransmission qui se trouve alors en mesure de fournir des modèles de plasticité neuronale.

² Expérience sur l'aplysie où si le siphon par lequel elle expulse l'eau est effleuré par un stimulus, il y a rétraction de la branchie. Si le stimulus est répété plusieurs fois de façon régulière, l'aplysie s'habitue: elle ignore le stimulus et ne retire plus sa branchie. Si l'animal subit une expérience désagréable, comme une petite décharge électrique sur la queue, l'habitude disparaît brusquement et l'animal réagira de façon excessive à un stimulus qui effleure le siphon. Cette sensibilisation qui dure quelques minutes ou quelques heures et peut être considérée comme une forme simple de mémoire à court terme.

Les bases de cette neuroplasticité et les modalités particulières de la neurotransmission liées à la mémoire et à l'apprentissage ont été précisées par le prix Nobel Erik Kandel dès 1976. Il démontra que les modifications du comportement dépendent d'altérations "plastiques" dans les synapses du circuit nerveux. Kandel a pu alors reconstituer la topographie des voies neuronales intervenant dans ces processus d'habituation et de sensibilisation chez cette espèce (Squire L.S., Kandel E.R. 1999). Il démontra ensuite progressivement les rôles de molécules telles que la sérotonine, et des adényl cyclases productrices d'AMPc et des récepteurs glutamatergiques, mais également des chaînes métaboliques de régulation des ions Ca^{2+} .

L'idée de mémoire a ainsi largement évolué au cours des siècles. D'un concept purement philosophique, la mémoire est devenue au fil de nouvelles théories naissantes, une composante vibratoire de chacune de nos cellules, le chaînon expliquant l'évolution des espèces, une molécule d'ARN transmissible, pour finalement être un ensemble de réactions chimiques, et de réseaux neuronaux au sein du cerveau.

6 Le « comportement » : l'apport d'Ivan Pavlov et du conditionnement

L'étude de la mémoire et dans un premier temps de l'apprentissage nécessite avant tout une base théorique et expérimentale. Le processus d'acquisition d'une l'information nouvelle résulte généralement d'un effet d'entraînement ainsi que d'un effet de renforcement. L'apprentissage consiste à acquérir ou à modifier une représentation d'un environnement de façon à permettre avec celui-ci des interactions efficaces ou de plus en plus efficaces. Pour la psychologie inspirée du comportementisme, l'apprentissage est vu comme la mise en relation entre un événement provoqué par l'extérieur (stimulus) et une réaction adéquate du sujet, qui cause un changement de comportement qui est persistant, mesurable, et spécifique. C'est ce dernier point qui est le plus important, en particulier dans les travaux de recherche que j'ai effectué car c'est la modification du comportement que nous étudions et mesurons.

Le conditionnement est un mécanisme d'apprentissage qui est au centre des théories comportementistes. On distingue généralement les conditionnements « classique » de type pavlovien et « opérant » tel celui mis en place 20 ans après les expériences de Pavlov par le psychologue Skinner quand il apprenait à des rats à appuyer sur un levier pour accéder à leur nourriture.

Le conditionnement classique a été théorisé par Ivan Pavlov à la fin du 19^{ème} siècle. Etudiant initialement le système gastrique des canidés et leurs sécrétions salivaires, il remarque que les chiens avaient tendance à saliver avant d'entrer réellement en contact avec les aliments. Il décida alors d'étudier cette « sécrétion psychique » en variant les stimuli précédant la présentation de la nourriture. Ces travaux lui permirent de découvrir les lois fondamentales de l'acquisition et la perte de ce qu'il appela les « réflexes conditionnels », c'est-à-dire les réponses réflexes qui ne se produisaient que de façon conditionnelle dans des conditions expérimentales.

Ces réflexes peuvent s'apparenter à une réaction involontaire, non innée, provoquée par un stimulus extérieur. Pavlov a développé la théorie selon laquelle les réactions acquises par apprentissage deviennent des réflexes lorsque le cerveau fait les liens entre le stimulus et l'action qui suit. D'après Pavlov, il y a deux types de réflexes, les réflexes innés, déjà présents à la naissance, et les réflexes conditionnels, ceux que l'on acquiert avec l'apprentissage. C'est sur cela qu'il se base pour faire avancer sa théorie et donner corps à cette idée.

L'idée de « conditionnement » en tant que forme automatique d'apprentissage est devenue un concept clé dans la psychologie comparative qui se développait et l'approche générale de la psychologie qui la sous-tendait : le béhaviorisme. La théorie béhavioriste fait du comportement observable l'objet même de la psychologie. La plupart des théories de l'apprentissage reconnaissent trois grandes variables dans le processus : l'environnement qui stimule ou le stimulus S, l'organisme qui est stimulé soit l'individu I, et le comportement ou la réponse de l'organisme par suite de la stimulation R. Le schéma classique est donc :

$$S \Rightarrow I \Rightarrow R$$

Dans le cas des travaux de Pavlov ce schéma est simplifié en

$$S \Rightarrow R$$

La notion de réaction non volontaire est le principal point de différence avec le conditionnement opérant développé par Skinner au milieu du 20^{ème} siècle. Ce dernier type de conditionnement présume un être actif avec son environnement, ce qui n'est pas le cas dans les expériences de Pavlov, ni dans nos expériences avec les drosophiles explicitées plus loin dans le manuscrit.

Le mécanisme de conditionnement développé par Pavlov offre non seulement un outil d'analyse des interactions entre un organisme et son milieu, mais aussi un moyen de pénétrer la dynamique cognitive des sujets d'études. Ses travaux ont ouvert la voie à de nombreux courants scientifiques telles que la physiologie cérébrale, la psychologie, sans oublier les neurosciences. Les travaux sur les reflexes conditionnels ont également eu une grande influence sur la culture populaire. L'expression "chien de Pavlov" est souvent utilisée pour décrire des individus privilégiant des réactions instinctives plutôt que l'utilisation de l'esprit critique. Dans « Le Meilleur des mondes » d'Aldous Huxley, le conditionnement pavlovien est un thème central du roman. Le conditionnement dirige les goûts futurs des membres de la société. La caste des *epsilons* apprend par exemple à ne pas aimer les fleurs, goût n'engendrant pas une activité économique intéressante. Ainsi, nous ne saurions surestimer l'importance des résultats considérables des travaux réalisés par celui qui deviendra le premier prix Nobel russe. Ses expériences de comportement sont à la base de nombreux travaux de recherche dans le monde, et en particulier dans le cadre des recherches que j'ai effectuées au sein de ce laboratoire.

« Si nous voulons savoir ce qu'est l'homme, nous devons savoir d'abord ce qu'est l'animal. »
Sextus Empiricus (M, VIII, 87)

B. Intérêt de la drosophile

La drosophile est l'un des organismes les plus étudiés en laboratoire par les biologistes. C'est un organisme modèle de premier choix dans de nombreux axes de recherche. La drosophile est un champ d'investigation nécessaire pour des recherches allant du développement, à l'étude des différents mécanismes cellulaires ou encore des phénomènes comportementaux communs à de nombreuses espèces. Ceci est particulièrement vrai pour l'étude du système nerveux. En effet, le cerveau de la drosophile est composé de neurones et de cellules gliales, comme ceux de la plupart des autres organismes. Les neurotransmetteurs permettant les diverses communications entre cellules sont conservés dans toutes les espèces. De plus, en dépit d'un nombre limité de cellules au sein de son système nerveux, la drosophile est néanmoins capable de produire des comportements complexes, mettant en jeu des capacités d'apprentissage et de mémorisation variées.

Au-delà d'études fondamentales sur le fonctionnement du cerveau, la drosophile se révèle surtout comme un modèle de premier ordre pour l'étude de maladie neurodégénérative. Le développement de techniques de biologie moléculaire variées, permettant un contrôle spatio-temporel quasi absolu de l'expression de gène ciblé, permet de disséquer les mécanismes d'action et les voies métaboliques altérées par les dégénérescences. Ces approches sont possibles car 50% des gènes humains ont un orthologue chez la drosophile (Rubin, Yandell et al., 2000). Enfin plusieurs études de maladie humaines ont été effectuées chez la drosophile, grâce à des approches transgéniques, en insérant dans le génome de la drosophile des gènes humains mutés ou non. Ainsi la liste des maladies touchant l'espèce humaine étudiée chez la mouche s'agrandit chaque année et inclut désormais également les maladies de Parkinson, Alzheimer, Huntington, et beaucoup d'autres (revue Bier 2005).

I Conservation des gènes homme/drosophile

De nombreux groupes ont comparé les liens évolutifs entre vertébrés et invertébrés. L'idée qui date de Darwin et qui considère que tous les êtres vivants descendent d'un ancêtre commun, LUCA (Last Universal Common Ancestor), laisse à penser que les grandes fonctions biologiques sont partagées par tous les organismes. En effet la plupart des voies de signalisation qui permettent leur développement, les principes de communication entre cellules ou neurones (sans oublier l'essence même de la vie l'ADN et l'ARN) sont partagés par tous les êtres vivants malgré les millions d'années d'évolution qui nous séparent de l'ancêtre commun. Or si une telle conservation existe dans les grands fonctionnements, c'est parce qu'il existe une très grande conservation des gènes au cours de l'évolution. Mais pour pouvoir réellement comparer les génomes, il faut avant tout les avoir séquencés.

2001 fut une année à marquer d'une pierre blanche, pour la recherche et la médecine en général, mais surtout pour les études génétiques. En effet c'est au cours de cette année que la compagnie Celera de Craig Venter acheva le séquençage du génome humain (Venter, Adams et al., 2001). Même si de nombreuses polémiques éclatèrent entre différents consortiums concernant la reconstruction du génome humain, qui à l'époque n'était qu'une ébauche, c'est-à-dire des séquences brutes non agencées, la séquence complète a été terminée en 2004 par un consortium international public. Néanmoins l'objectif initial n'était pas de séquencer les quelques 3 milliards de paires de base, mais plutôt d'identifier les gènes, ainsi que les protéines codées et leurs fonctions. Mais savoir où se situe un gène, connaître l'identité de la protéine, son patron d'expression, ne sont pas des données suffisantes pour identifier sa fonction et encore moins pour définir son rôle dans différents mécanismes moléculaires et cellulaires. Il est alors indispensable de passer par un organisme modèle pour l'étudier. Le génome de la levure a été séquencé en 1996, celui du ver *Caenorhabditis elegans* en 1998 (1998; Bargmann 1998), celui de la drosophile en 2000 (Adams, Celniker et al., 2000), et celui de la souris en 2002 (Marshall 2002). Le génome humain présente 80 % de similitude avec celui de la souris et 60 % avec celui de la drosophile.

De nombreuses équipes ont alors essayé de comparer plus précisément les gènes impliqués dans des maladies humaines avec les génomes d'autres espèces. En fonction des techniques d'analyse et selon divers critères, celles-ci sont arrivées à différents résultats. L'équipe du Dr Ethan Bier à l'University of California San Diego a analysé 714 protéines

humaines impliquées dans diverses maladies et regroupées dans la banque de donnée OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) qu'il a comparées au génome de drosophile (Reiter, Potocki et al., 2001; Chien, Reiter et al., 2002). En tenant compte de critères précis (BLASTP, E value of 10^{-10}), il a montré que sur les 714 protéines analysées, 548 d'entre elles ont un homologue chez la drosophile, soit 76%. L'équipe du Pr. Fortini à l'University of Pennsylvania School of Medicine a analysé 287 autres gènes présents dans l'OMIM, et montré que 62% d'entre eux ont un homologue chez la drosophile également (Rubin, Yandell et al., 2000).

Il est alors possible d'étudier l'homologue d'un gène humain impliqué dans une pathologie chez la drosophile. Cela permet de mettre en place des stratégies invasives qui ne pourraient, pour des questions pratiques et éthiques, être appliquées à l'homme.

II La puissance de la drosophile comme animal modèle

La drosophile est un cobaye exceptionnel en génétique et ce pour de nombreuses raisons. Elle est très facile à élever en laboratoire, et du fait de sa petite taille, des centaines de lignées différentes peuvent être stockées dans des étuves. De plus, comme il s'agit d'animaux à sang froid, son cycle de génération dépend de la température. A 18°C il faut compter 3 semaines pour obtenir la génération suivante, et seulement une douzaine de jours à 25°C. Comme la génétique s'intéresse à la transmission des caractères, il s'agit là d'un avantage indéniable par rapport aux mammifères comme la souris ou le rat. Les femelles peuvent pondre jusqu'à 500 oeufs en 10 jours, ce qui permet d'avoir largement assez d'individus et donc de matériel pour pouvoir travailler. Les larves de troisième stade ont dans leurs glandes salivaires des chromosomes polythènes géants qui permettent des analyses aisées de localisation chromosomique de protéine. Leur génome compact ne possède que 3 autosomes, et un chromosome sexuel. Les mâles n'effectuant pas de recombinaison, les études génétiques en sont alors grandement facilitées. Les « outcross » s'effectuent alors uniquement chez les femelles. Enfin, et c'est le point le plus important, les techniques de transformation génétique associées au développement de la biologie moléculaire permettent aux scientifiques de manipuler quasiment à leur guise le génome de la drosophile. Il est possible de perturber l'expression d'un gène, soit par l'insertion de mutation ponctuelle avec des agents mutagènes

tel que l'EMS, soit par l'insertion contrôlée ou aléatoire d'éléments transposables. C'est ce que l'on appelle la transgénèse. Néanmoins, l'outil le plus utilisé actuellement pour inhiber l'expression d'un gène est l'utilisation d'ARN interférence ou siRNA. Il s'agit d'un fragment d'ARN double brin qui a la capacité de se replier sur lui-même et qui interfère avec un ARN messager spécifique endogène conduisant à sa dégradation et à la diminution de sa traduction en protéine. En 2006, plus de 14000 articles scientifiques faisaient référence à cette technique d'interférence ARN, montrant l'extraordinaire intérêt que les chercheurs lui portent. L'utilisation de siRNA pour étudier la fonction d'un gène est devenue en très peu d'années une technique de base, utilisée par des biologistes de toutes disciplines. Mais il est également possible de sur-exprimer des gènes grâce à des vecteurs de sur-expression. Il est même aujourd'hui possible grâce à des promoteurs inductibles de contrôler de manière spatiotemporelle l'expression de ces transgènes.

Sur la page suivante est présentée une liste non exhaustive des outils moléculaires couramment utilisés en génétique chez la drosophile : liste 1.

liste 1: liste non exhaustive des outils utilisés en génétique chez la drosophile.

Tool	Description
Expression control	
GAL4	Yeast transcription factor used to drive expression of transgenes downstream of the GAL4 upstream activating sequence (UAS _{GAL4})
UAS _{GAL4}	Promoter driven by GAL4; any gene cloned downstream can be driven in a cell-specific manner when combined with a region-restricted GAL4
GAL80	Yeast repressor of GAL4, can be used to spatially limit GAL4 activity
GAL80ts	A temperature sensitive GAL80 used in the TARGET system to provide user-determined temporal control of spatially restricted GAL4 activity
GeneSwitch	A steroid-hormone activated GAL4, allowing user-determined temporal control of spatially restricted GAL4 activity
OR{GAL4}	Olfactory receptor gene promoter-driven GAL4
TH{GAL4}	Tyrosine hydroxylase gene promoter-driven GAL4, to control transgene expression in dopaminergic neurons
TDC2{GAL4}	Tyrosine decarboxylase 2 gene-promoter driven GAL4, to control transgene expression in octopaminergic (and tyraminerbic) neurons
MB{GAL4}	There are many {GAL4} enhancer-trap lines that permit transgene expression in subsets of MB neurons
DPM{GAL4}	Several {GAL4} enhancer-trap lines that permit transgene expression in DPM neurons
FLP-FRT	A site-specific recombination system that can be used to limit the expression of reporter genes so that single neurons can be labelled
MARCM	Mosaic analysis with a repressible cell marker, a sophisticated genetic trick using GAL80 that allows single (wild-type or mutant) neurons to be labelled
LexA/LexAop	Binary transcription factor system based on the bacterial LexA transcription factor. LexA transactivates promoters containing the LexAop sequence. This system is independent of GAL4 but variants have been engineered that can be repressed by GAL80. Dual use of LexA/LexAop and GAL4/ UAS allows one to simultaneously manipulate different neurons
Reporters	
UAS-Cameleon 2.1	A ratiometric fluorescent reporter of intracellular Ca ²⁺
UAS-SpH	Synaptophluorin, a pH-sensitive fluorescent reporter of synaptic transmission
UAS-GCaMP	A high signal-to-noise fluorescent reporter of intracellular Ca ²⁺
Effectors	
UAS-TNT	Tetanus toxin light chain; blocks neurotransmitter release
UAS-shibire ^{ts1}	A temperature-sensitive blocker of synaptic transmission resulting from a block of endocytosis and therefore synaptic vesicle recycling
UAS-P2X2	A rat ionotropic ATP receptor that permits direct stimulation of genetically marked neurons following photoactivation of caged ATP
UAS-VR1	A rat vanilloid receptor that permits direct stimulation of genetically marked sensory receptors with capsaicin
UAS-ChR2	Channelrhodopsin 2, an algal blue-light-activated cation channel that permits direct stimulation of genetically marked neurons with light
UAS-PTX	Pertussis toxin; inhibitor of G _o signalling
UAS-PACα	Photoactivated adenylyl cyclase, a flagellate adenylyl cyclase that permits stimulation of cAMP synthesis in genetically marked neurons with blue light

from Alex C. Keene and Scott Waddell 2007

III Les limites de la drosophile

Néanmoins l'utilisation de la drosophile pose quelques difficultés. Il est en effet peu évident de développer des stratégies reposant sur de l'électrophysiologie et ainsi d'étudier les neurones *in vivo*, contrairement à ce qu'il est possible de faire chez des mammifères ou bien encore chez l'aplysie (qui dispose des plus gros neurones de tout le règne animal). Il existe également des modèles animaux dotés de temps de génération plus court, de génome plus petit, et se reproduisant tout autant et qui peuvent être rapidement criblés génétiquement. C'est le cas du nématode ou de la levure. De plus pour l'étude du système nerveux, qui a pour but d'aider à la compréhension du cerveau humain, étant donné la complexité de ce dernier avec ses milliards de neurones et certainement mille fois plus de synapses, l'identification des mécanismes biologiques qui sous-tendent l'activité d'un système passe obligatoirement par l'étude de système beaucoup plus simple et facilement manipulable. *C. Elegans* possède un système nerveux simple composé de 302 neurones identifiés, et formant 7000 synapses dont 2000 jonctions neuromusculaires et 600 jonctions communicantes (*gap junctions*) (Sengupta, et al., 1993). A titre de comparaison, une seule cellule pyramidale du cortex de mammifère forme plus de 10000 synapses (1998; Bargmann 1998). *C. elegans* est transparent durant la totalité de son développement. Chaque neurone peut être identifié individuellement en microscopie optique d'après la position de son noyau dans l'animal. Avec un laser, il est ensuite possible de procéder à la photo-ablation d'un neurone ou d'un groupe de neurones pour évaluer leur fonction dans un comportement précis (Bargmann 1998). De profondes altérations du système nerveux ne sont généralement pas incompatibles avec le développement de *C. elegans* en conditions de laboratoire. Ainsi, sur les 302 neurones présents chez *C. elegans*, seuls 3 sont absolument nécessaires à la survie de l'individu en condition de laboratoire: le neurone M4 qui permet la relaxation du pharynx, et la paire de neurones CANL et CANR qui contrôlent l'osmolarité du milieu intérieur. De ce fait, des mutations affectant profondément le développement ou le fonctionnement du système nerveux de *C. elegans* sont viables et analysables chez l'adulte.

Ainsi, la drosophile n'apparaît pas forcément comme le modèle ultime pour l'étude du système nerveux. Il faudrait pouvoir à la fois combiner l'approche électrophysiologique possible chez les mammifères, avec la simplicité du système nerveux du ver. Mais quid du

comportement ? Malgré quelques inconvénients par rapport à d'autres modèles biologiques, la drosophile semble être à la croisée des chemins grâce à son large éventail de comportements.

IV Les différents comportements

Il a été montré que la mouche drosophile est capable de comportements complexes qui impliquent l'existence d'une mémoire solide. Son comportement naturel dépend entre autre de son expérience personnelle, il est possible de lui apprendre à réagir à certains stimuli, de la même façon que le chien conditionné de Pavlov salive quand sonne l'heure du repas. Plusieurs comportements ont été étudiés pour poser les bases d'un modèle d'apprentissage et de mémorisation.

a- La parade

Un des comportements mettant en jeu la mémoire chez la mouche est la parade nuptiale (Spieth 1974; Sciandra and Bennett 1976). Le mâle prétendant marque son intérêt pour la femelle par une succession d'attitudes stéréotypées (chant vibratoire, danse, attouchement sexuel) facilement observables. Or la femelle drosophile ne s'accouple qu'une fois par semaine environ car il se constitue en son sein un stock de spermatozoïdes qui lui permet de pondre 20 œufs quotidiennement sans nouvel accouplement. Un mâle sans expérience a tendance à tenter sa chance chaque fois qu'il est en présence d'une femelle. Une femelle fraîchement fécondée, quant à elle, rejette énergiquement tout nouveau prétendant. Le mâle éconduit associe alors les phéromones de la femelle à son attitude de rejet (apprentissage associatif). Fort de cette expérience, le jeune mâle réduit alors notablement son attitude de courtisan par rapport à un mâle « naïf ». Le comportement du mâle est ainsi modifié par l'expérience : il y a eu apprentissage. Si cette observation met en évidence les capacités d'apprentissage de la mouche, et si elle a permis d'affiner la description de la mémoire, elle ne permet pas une mesure facile des capacités mnésiques. En effet, le phénomène met en jeu des paramètres difficilement contrôlables qui entraînent une variabilité importante des comportements observés (production de phéromones en quantité variable selon les individus, etc.).

b- Ajustement du vol de la drosophile en fonction des stimuli visuels perçus

Pour disposer d'outils permettant une mesure plus précise de la mémoire visuelle, des protocoles d'apprentissage associatifs plus standardisés ont été mis au point. L'un des plus spectaculaires est le « simulateur de vol », développé par le laboratoire de M. Heisenberg à Würzburg, en Allemagne (Wolf and Heisenberg 1990). L'appareil est constitué d'une arène mobile au centre de laquelle une mouche est suspendue par le cou à une tige métallique reliée à un capteur qui mesure les torsions imprimées par les mouvements de la mouche (figure 1). Ces torsions représentent la direction virtuelle du vol, elles sont interprétées par un ordinateur qui en réponse va modifier le panorama présenté à la mouche. Par exemple lorsque la mouche oriente son vol vers la gauche l'arène panoramique opère une rotation vers la droite, lui donnant ainsi l'impression qu'elle est effectivement en train de tourner. La mouche peut choisir de voler face à deux formes géométriques, un T et un T inversé, qui constituent des stimuli neutres. Pendant le conditionnement, une lumière chauffe son abdomen quand elle « vole » vers le T. La mouche associe la sensation de brûlure à la perception visuelle du T. Cet apprentissage associatif est qualifié d'opérant car la mouche est libre d'échapper au stimulus négatif à tout moment. Elle apprend en réponse à son exploration active de l'environnement. À la suite de la phase de conditionnement le test de mémoire commence : la direction du vol de la mouche est enregistrée en absence de lumière chaude. Si elle a bien appris, la mouche évite le T précédemment associé à la chaleur et s'oriente préférentiellement face au T inversé. La proportion du temps passé par la mouche en direction du T inversé est une mesure de sa mémoire visuelle. Au bout de 24 heures, la mouche vole indifféremment en direction des deux formes géométriques. L'information T = chaleur a été stockée, mémorisée pour ensuite être progressivement oubliée en absence de nouveau renforcement.

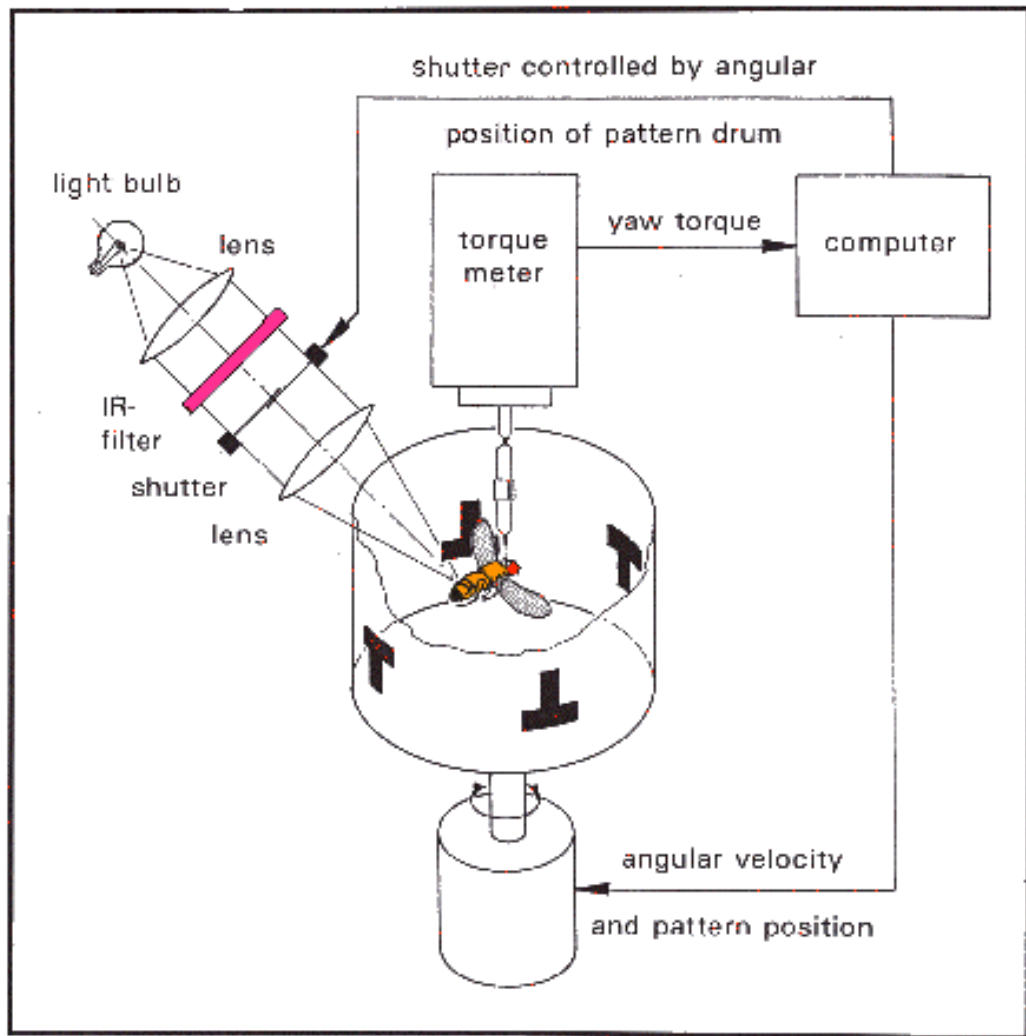


Figure 1: Schéma du « simulateur de vol »

Cet appareil est constitué d'une arène mobile au centre de laquelle une mouche est suspendue par le cou à une tige métallique reliée à un senseur qui mesure les torsions imprimées par les mouvements de son corps. Ces torsions représentent la direction virtuelle du vol, elles sont interprétées par un ordinateur qui va modifier le panorama présenté à la mouche. La lumière chauffe son abdomen lorsqu'elle se dirige vers le T, ce qui constitue un conditionnement négatif. Elle est libre d'échapper au stimulus négatif à tout moment en se dirigeant dans une autre direction. Le test de mémoire s'effectue à 24 h : la direction du vol de la mouche est enregistrée en absence de lumière chaude. La proportion du temps passé par la mouche en direction du T inversé est une mesure de sa mémoire visuelle ; (Selon Wolf et Heisenberg, 1990)

c- La mémoire olfactive

Si la mouche présente une mémoire visuelle, le paradigme le plus robuste reste le protocole d'apprentissage associatif mettant en jeu l'olfaction. En effet, la drosophile possède un odorat extrêmement sensible capable de détecter jusqu'à la femtomole. Ce protocole permet une analyse statistique de la mémoire puisqu'il fait intervenir une population de mouches. On obtient une valeur moyennée, plus fiable mathématiquement. Mis au point aux Etats-Unis au milieu des années 70 par Seymour Benzer (Quinn, Harris et al., 1974), puis amélioré par Tim Tully et William Quinn (Tully and Quinn 1985), le conditionnement olfactif de la drosophile repose sur la présentation simultanée d'une odeur et d'un choc électrique, à la suite de quoi les mouches ont tendance à éviter cette odeur même en l'absence du choc.

Ce type de conditionnement est de type classique ou non opérant. Dans ce cas, le stimulus à conditionner est un événement extérieur tandis que dans le cadre d'un conditionnement non-opérant ou appelé apprentissage skinnerien ou de type II, il s'agit d'une action de l'animal lui-même, qui génère l'apprentissage.

Pratiquement, un groupe de mouches est emprisonné dans un tube recouvert à l'intérieur d'une grille électrifiable, parcouru par un courant d'air chargé d'odeur. Les mouches sont soumises à une première odeur en même temps qu'à des chocs électriques. Ensuite une seconde odeur leur est présentée sans choc électrique. Elles sont finalement transportées à un point de choix où elles peuvent se déplacer librement dans deux compartiments contenant chacun une des deux odeurs utilisées pour le conditionnement, mais cette fois en l'absence de choc. À la fin de la phase de test, les mouches contenues dans chaque compartiment sont collectées et comptabilisées. Une « courbe de rétention » de mémoire peut être obtenue en testant différentes populations de mouches d'une même souche à différents temps après le conditionnement révélant ainsi le déclin de la mémoire en fonction du temps.

d- Calcul du score ou indice de performance

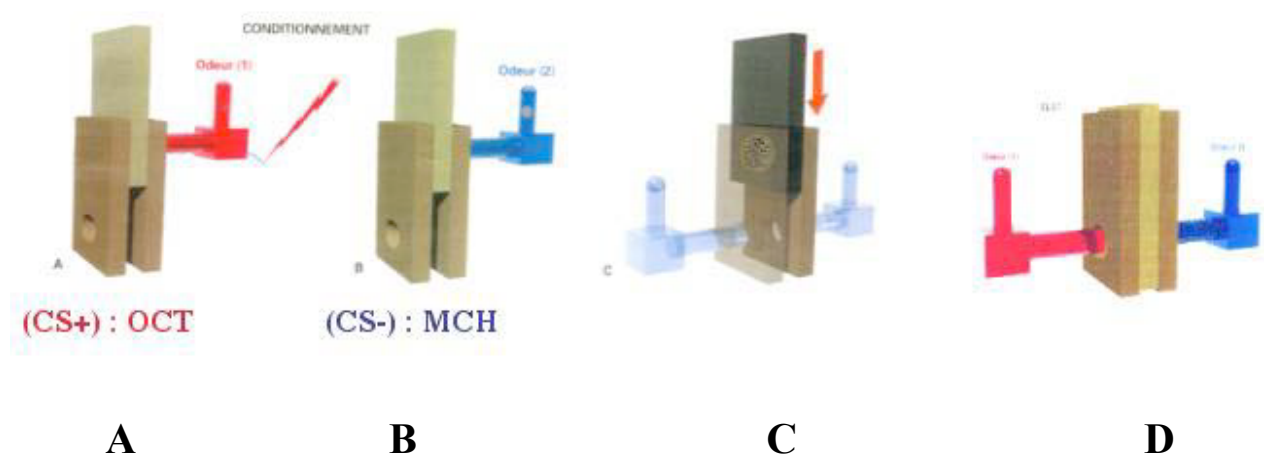
On calcule dans un premier temps un indice de performance, λ_1 , qui rend compte de la part de la population de drosophile qui s'est souvenue qu'une odeur était associée à un stimulus négatif. Ce λ_1 est défini comme le nombre de mouches ayant évité l'odeur associée aux chocs électriques, moins le nombre de mouches ayant choisi cette odeur, le tout divisé par

la population totale. En effet, les mouches s'étant dirigées vers le « mauvais » côté, ne l'ont pas fait sciemment, et ont donc choisi au hasard ce côté. Il y en a donc également autant du « bon » côté. On calcule de ce fait le nombre de mouche qui s'est effectivement souvenu de l'association odeur et chocs électriques. Pour éviter un biais dû aux natures des deux odeurs, de leur concentration et de leur reconnaissance variables par les souches mutantes, des variations des débits d'air, ou bien des phéromones laissées par un groupe précédemment conditionnée, chaque lignée est conditionnée deux fois. Dans un premier temps, on associe les chocs électriques avec l'odeur A, puis lors d'un second conditionnement avec l'odeur B. On obtient alors un second λ_2 , et l'indice de performance globale, IP, est la moyenne des deux λ .

Le schéma figure 2 synthétise le déroulement de ce paradigme, ainsi que le calcul des scores de mémoire.

Ayant mis en évidence des capacités d'apprentissage et de mémorisation chez la drosophile, et disposant d'outils précis d'étude, il faut s'intéresser aux différentes formes de mémoire.

Figure 2 : Protocole d'apprentissage olfactif par renforcement négatif chez la drosophile



$$\text{Score } \lambda_1 = \frac{(\text{CS-}) - (\text{CS+})}{(\text{CS+}) + (\text{CS-})}$$

$$\text{Indice de performance} = (\lambda_1 + \lambda_2) / 2$$

L'appareil de conditionnement est composé : d'un tube d'entraînement recouvert d'une grille électrifiable, de deux tubes, au niveau desquels test se fait, d'un compartiment glissant, qui permet de transférer les mouches du tube d'entraînement au lieu de choix des odeurs.

Conditionnement (A et B): Les mouches sont exposées à une première odeur associée à un choc électrique, puis à une deuxième odeur sans choc électrique.

Test (C et D): Les mouches sont transférées dans une chambre où convergent les 2 odeurs. Les mouches ont la possibilité de se diriger vers l'une ou l'autre odeur. Au bout de 2 minutes, le nombre de mouches dans chacun des tubes est comptabilisé et un score (indice d'apprentissage) est calculé. L'évolution de ce score au cours du temps permet de suivre la mémoire des mouches.

Mesure de l'indice d'apprentissage : deux demi-scores ($\lambda/2$) sont calculés à partir des deux odeurs réciproques. Le score final (λ) correspond à la moyenne de ces deux demi-scores.

CS- : nombre de mouches du côté de l'odeur non associée au choc électrique.

CS+ : nombre de mouches du côté de l'odeur précédemment associée au choc électrique.

OCT : 3 - Octanol **MCH :** 4 – methylcyclohexanol

Selon Tully, et Quinn, 1985.

C 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 voies 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 consolidées : 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 inexistante 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, Preat 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.

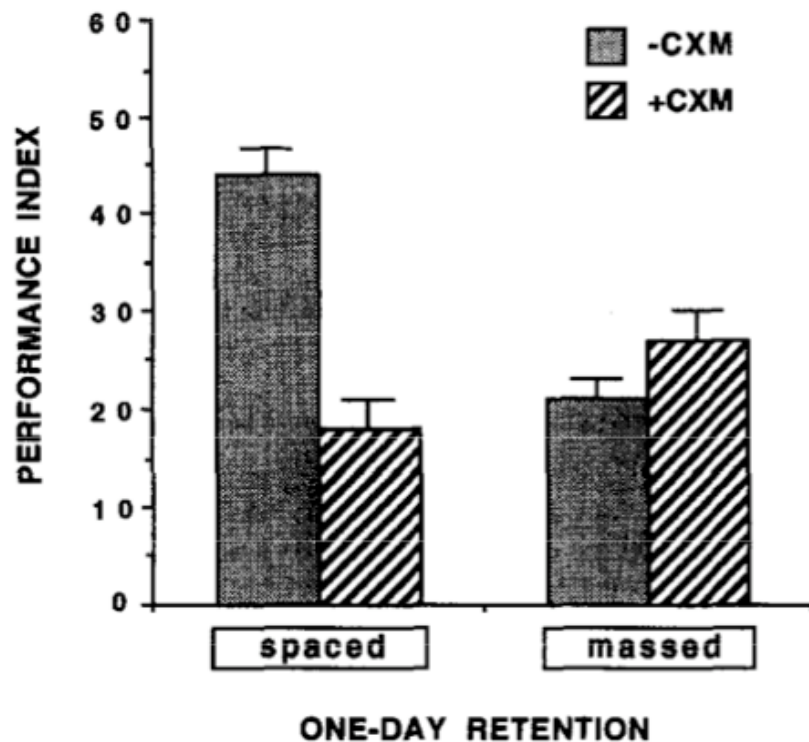


Figure 3 : Importance de la synthèse protéique pour la MLT

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.

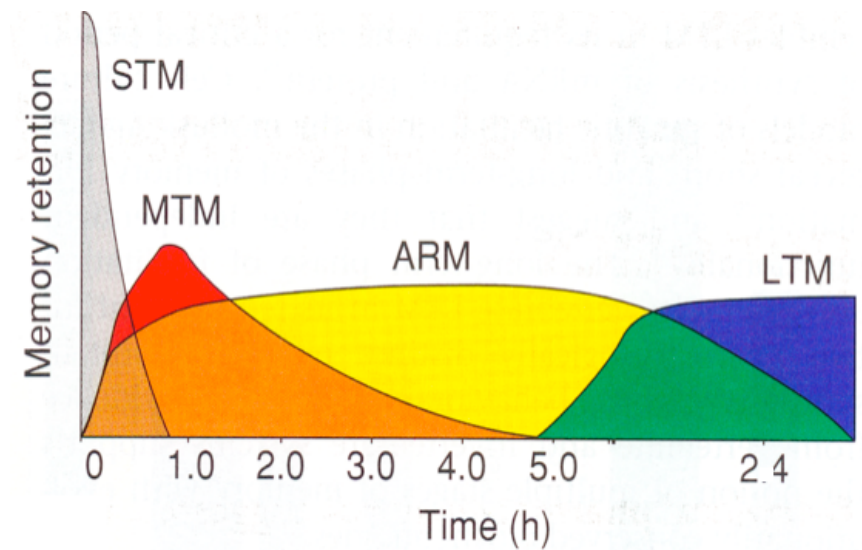
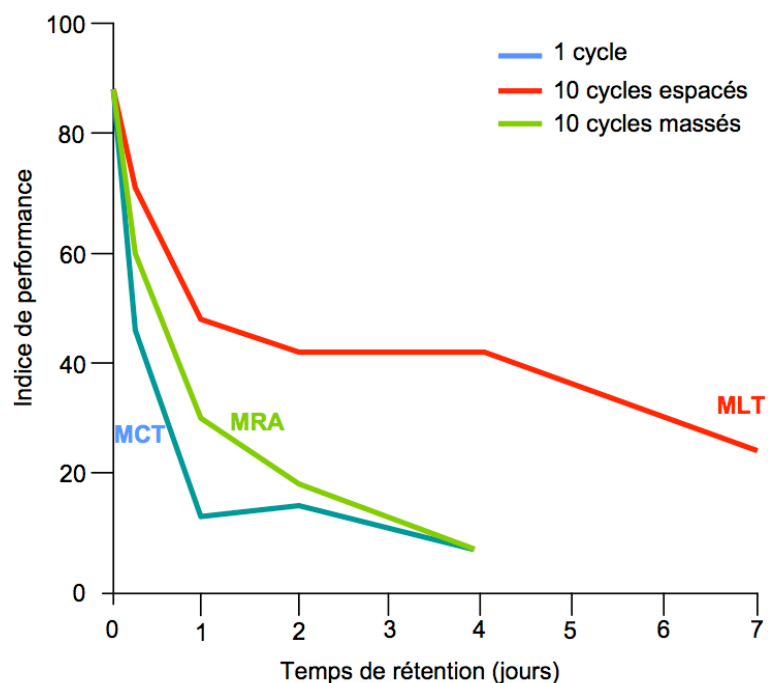


Figure 5 : Courbes de rétention des phases de mémoire

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 intercerebralis* dans la partie antérieure composée de neurones neurosécréteurs 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 naissent 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).

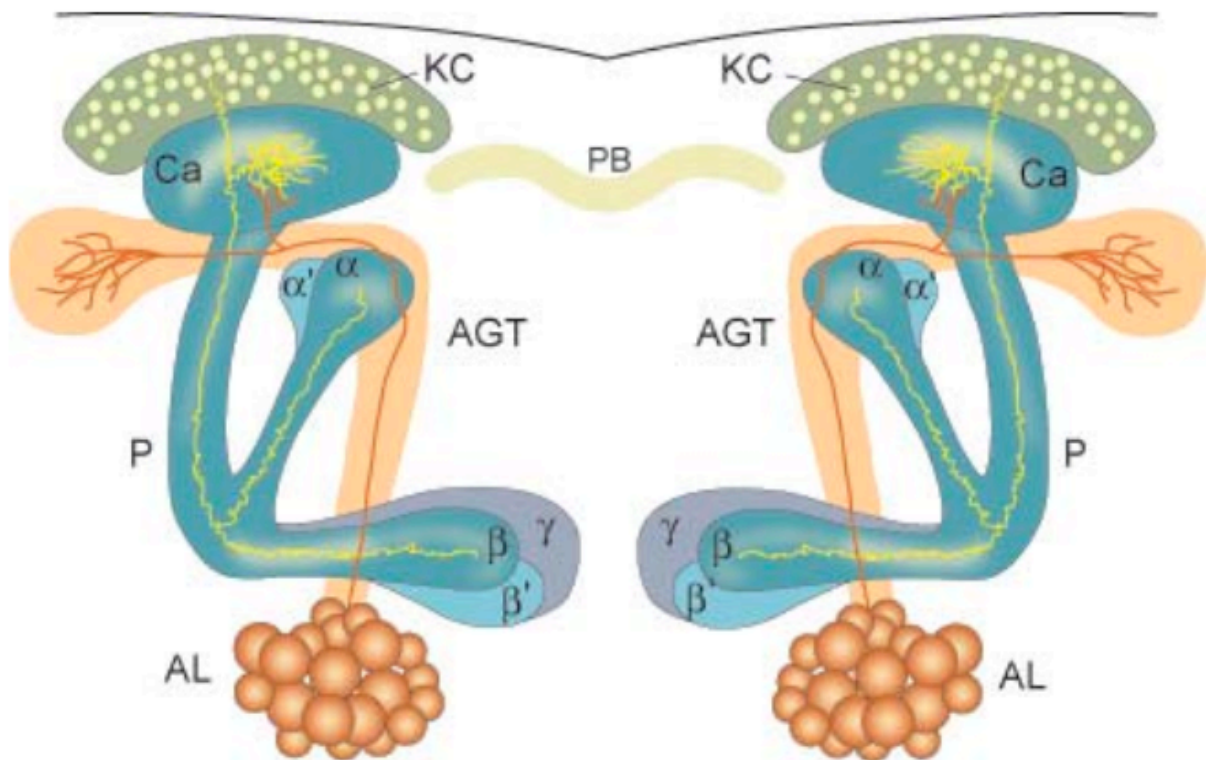


Figure 6 : Schéma des neurones des corps pédonculés

Les calices (Ca) contiennent les arborescences dendritiques des cellules de Kenyon (KC). Les axones de ces cellules projettent rostralement au sein des pédoncules en donnant naissance à différents lobes : deux verticaux α et α' ; et trois horizontaux β , β' , et γ .

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 β , β' et γ . Deux autres se dirigent dorsalement et forment les lobes verticaux α et α' . Les lobes α et β d'une part, et α' et β' 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 α'/β' et α/β et les axones sans bifurcation dans le lobe γ 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 γ naissent jusqu'au milieu du troisième stade larvaire; les neurones α'/β' naissent entre le milieu du stade larvaire 3 et le début de la pupaison; et enfin les neurones α/β naissent à partir de la pupaison. Les corps pédonculés embryonnaires sont donc exclusivement constitués des fibres γ médialement et dorsalement. C'est le développement de ces quatre neuroblastes qui donne un corp pédonculé (figure 8).

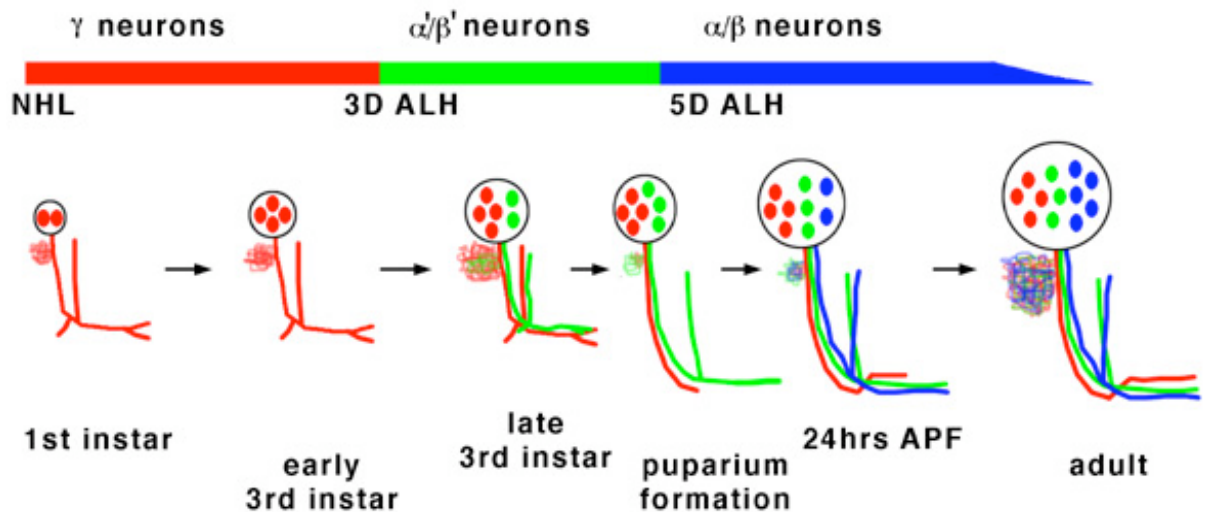


Figure 7 : Schéma du développement des corps pédonculés

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 γ (rouge) apparaissent avant le milieu du 3^e stade larvaire, les α'/β' (vert) entre le milieu du 3^e stade larvaire et le stade pupale, et le α/β (bleu) après ce dernier stade. Pendant le début de la métamorphose, les axones et les dendrites des neurones γ dégèrent partiellement et de nouvelles projections se forment mais uniquement en suivant l'axe médian. Les lobes α'/β' ne subissent quant à eux que peu de transformation durant la métamorphose. Les lobes α/β naissent quant à eux pendant la métamorphose et ne subissent pas de remaniement. (Lee, Lee et al., 1999).

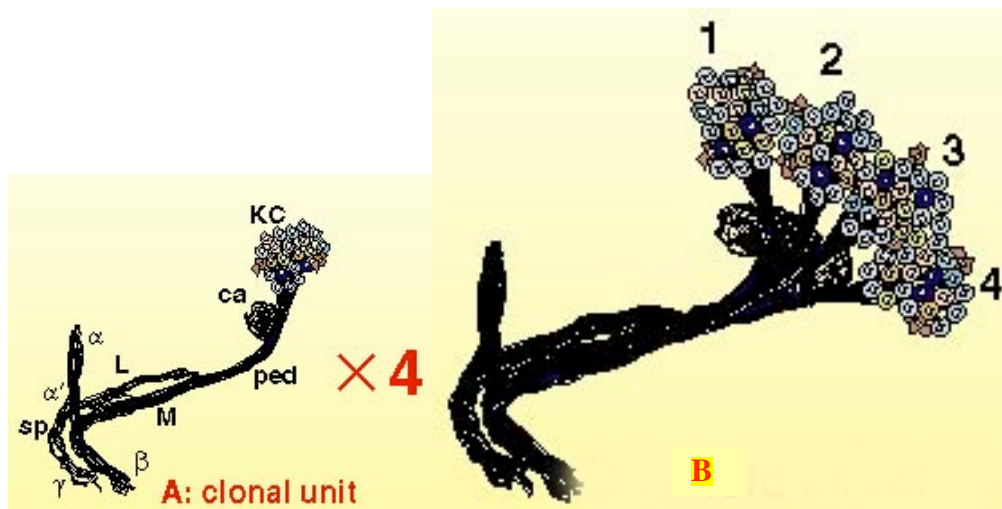


Figure 8 : Schéma de la structure des corps pédonculés

A : Chaque neuroblaste génère une unité clonale contenant des cellules gliales et de Kenyon. Ces dernières (KC) sont représentées de couleur différente. ca : le calice ; ped : le pédoncule ; sp : talon. L et M représentent respectivement les projections latérales et médianes. Les lobes α , β et γ sont les projections axonales des cellules de Kenyon.

B : Les 4 neuroblastes étant équivalents, les cellules issues de chacun d'entre eux participe de manière comparable à l'ensemble de la structure des corps pédonculés. (Ito, Awano et al., 1997; Ito, Suzuki et al., 1998).

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 glomérules 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.

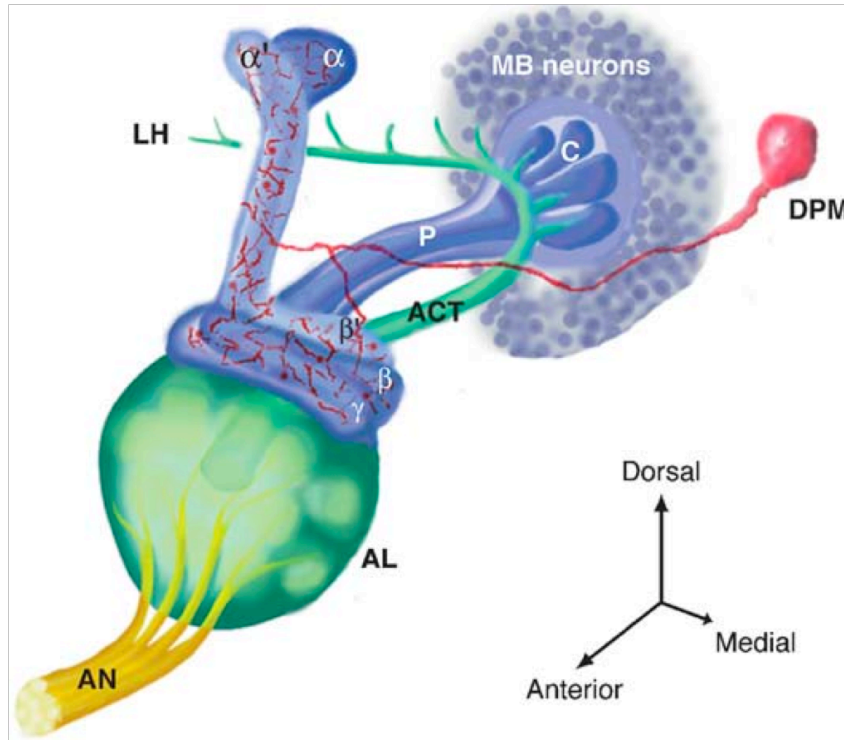


Figure 9 : Schéma d'intégration des informations olfactives par le système nerveux

Les odeurs sont détectées au niveau des antennes et remontent jusqu'aux lobes antennaires (AL), pour atteindre les glomérules 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 Prémat 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 influencer 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 précoces. 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 Ca^{2+} /calmoduline (Livingstone, Sziber et al., 1984). Le séquençage du locus de *rut*^l 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*²⁰⁸⁰, 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*²⁰⁸⁰ (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 phosphodiesterase (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^{2+} (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 prédite pour être un activateur transcription el, 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 inductible, 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 évasive. 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 démontra 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 démontrèrent également que bloquer la neurotransmission de ces neurones en utilisant le

transgène thermosensible *Shi^{ts}* 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*, démontrèrent 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 α (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 α/β et plus faiblement au niveau des lobes γ . 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 vues 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 et 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