

Les souris KO

Puis, en 1996, j'ai utilisé la technique des souris knock-out pour étudier le rôle des récepteurs au NMDA dans l'apprentissage et la mémoire. Chez les souris knock-out, un gène a été inactivé ou supprimé de toutes leurs cellules : on déduit la fonction du gène de l'observation physiologique et comportementale de ces animaux.

Toutefois, la plupart des souris knock-out meurent à la naissance ou peu après, car les gènes manquants sont indispensables au développement normal : c'est le cas des gènes qui codent les différentes sous-unités des récepteurs au NMDA. J'ai alors mis au point une méthode de suppression de la sous-unité NR1 du récepteur au NMDA dans une partie de l'hippocampe nommée CA1 (voir la figure 3).

Par chance, c'est dans cette région CA1 que la potentialisation et la dépression à long terme avaient été le plus étudiées. En outre, on savait qu'une lésion cérébrale de cette aire entraîne des déficits mnésiques : les variations de l'efficacité synaptique dans les régions CA1

de ces souris disparaissent. Ces dernières ont des représentations spatiales anormales et une mémoire spatiale déficiente : elles ne retrouvent pas leur chemin dans un labyrinthe aquatique. De plus, elles ont également des déficits dans plusieurs autres tâches de mémoire.

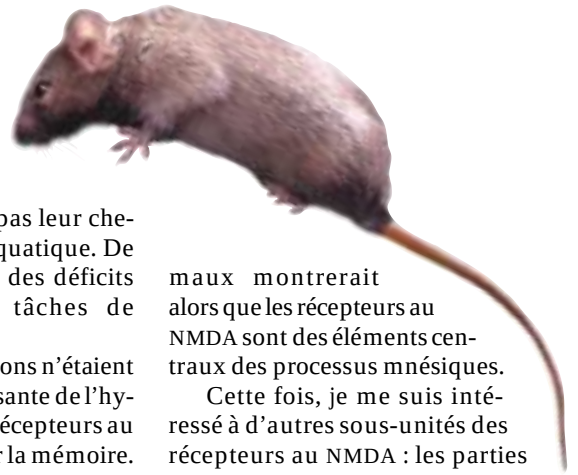
Toutefois, ces observations n'étaient pas une confirmation suffisante de l'hypothèse selon laquelle les récepteurs au NMDA sont essentiels pour la mémoire. En effet, les drogues qui bloquent les récepteurs perturbent souvent les activités sensorielles, motrices et comportementales. Elles pouvaient agir sur des molécules différentes des récepteurs au NMDA, de sorte que les déficits mnésiques des souris knock-out auraient été dus à d'autres anomalies, insoupçonnées et indépendantes des dépressions ou des potentialisations.

Obtiendrait-on des indications plus probantes en augmentant la fonction des récepteurs au NMDA chez la souris ? L'augmentation des capacités d'apprentissage et de mémoire de tels ani-

maux montrerait alors que les récepteurs au NMDA sont des éléments centraux des processus mnésiques.

Cette fois, je me suis intéressé à d'autres sous-unités des récepteurs au NMDA : les parties NR2A et NR2B. En effet, on savait que, chez des animaux tels que les oiseaux, les rongeurs et les primates, les récepteurs au NMDA restent actifs, c'est-à-dire ouverts, plus longtemps chez les jeunes que chez les adultes. Cette différence semblait expliquer les meilleures capacités d'apprentissage et de mémoire des animaux jeunes.

Or, lorsque les individus vieillissent, des récepteurs au NMDA dotés de la sous-unité NR2A remplacent ceux qui contiennent la sous-unité NR2B. Des expériences *in vitro* ont montré que les récepteurs à sous-unité NR2B res-



1. LORS D'UN TEST DE RECONNAISSANCE, les souris Doogie se souviennent plus longtemps d'un objet déjà vu (en jaune) : elles n'examinent que le nouvel objet présenté (en rouge).



Peter Murphy



2. DANS LE TEST DU LABYRINTHE AQUATIQUE DE MORRIS, on met une souris dans une piscine d'eau trouble, où elle nage à la recherche d'une plate-forme peu immergée sur laquelle elle peut se reposer au sec. Elle ne dispose pour la repérer que d'un point rouge placé sur

un rideau noir qui cerne le bassin. Les souris Doogie atteignent plus rapidement la plate-forme que les souris normales. De plus, lorsque la plate-forme est ôtée, les souris Doogie se souviennent de l'endroit où elle était et y passent plus de temps.

tent ouverts plus longtemps que ceux à sous-unité NR2A.

Nous avons alors injecté, dans des ovules fécondés de souris, le gène qui code la sous-unité NR2B liée à un segment d'ADN qui favorise l'expression du gène dans le cerveau adulte ; ce complexe s'intègre aux chromosomes, qui reçoivent ainsi un exemplaire supplémentaire du gène NR2B. Chez les souris modifiées qui naquirent de ces ovules, les récepteurs au NMDA restent ouverts pendant environ 230 millisecondes, soit près de deux fois plus longtemps que chez des souris normales. De surcroît, les neurones de l'hippocampe des souris adultes renforcent leurs connexions synaptiques plus efficacement que ceux de souris normales du même âge : leurs connexions ressemblent à celles des souris juvéniles.

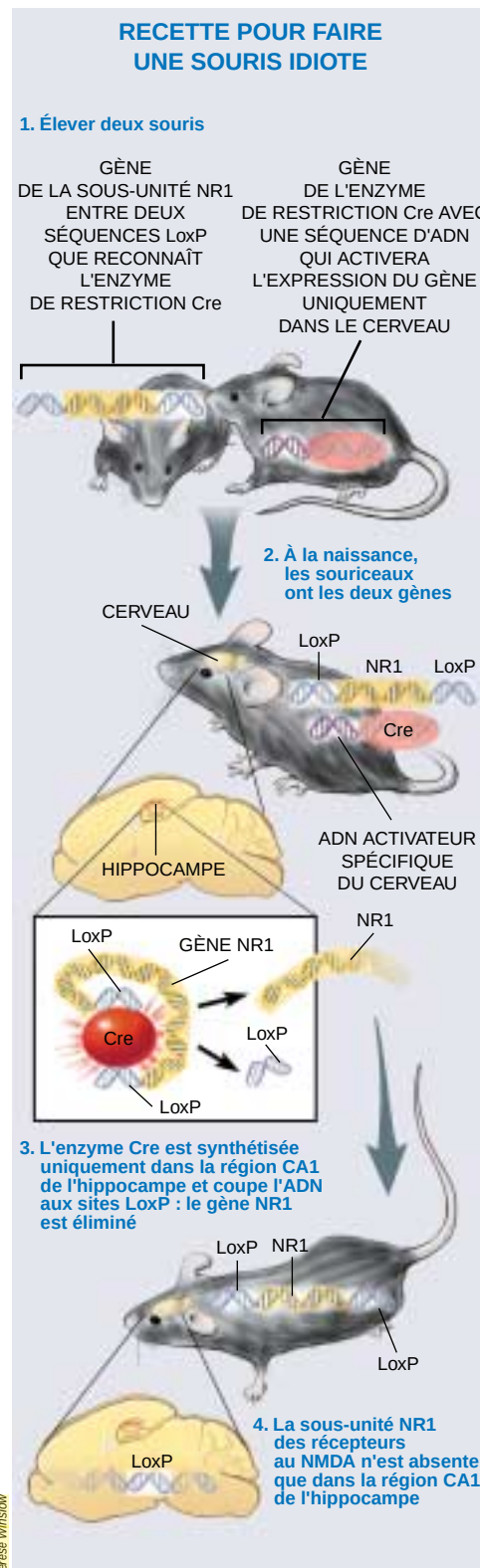
À chaque âge, sa sous-unité

Quelles sont les capacités d'apprentissage et de mémoire de ces souris baptisées Doogie (d'après un personnage de feuilleton télévisé)? Nous avons d'abord testé la reconnaissance des objets (l'un des aspects les plus primaires de la mémoire) : placées dans une boîte ouverte, des souris Doogie ont examiné deux objets pendant cinq minutes. Après plusieurs jours, nous avons remplacé l'un de ces objets et remis les souris dans la boîte. Les souris modifiées se souvenaient de l'objet ancien et n'avaient d'attention que pour le nouveau. En revanche, des souris normales consacraient autant de temps à chacun des deux objets : l'objet ancien ne leur était pas plus familier que le nouveau. Les tests successifs, à différents intervalles de temps, ont montré que les souris Doogie se souviennent des objets quatre à cinq fois plus longtemps que leurs congénères normales (voir la figure 1).

Puis, avec mon collègue Ya-Ping Tang, nous avons examiné la capacité des souris à associer un choc électrique léger à l'endroit où elles sont, ou à un certain son. Quelques jours plus tard, lorsqu'elles sont replacées au même endroit, ou soumises au même son, la probabilité que les souris Doogie s'immobilisent, c'est-à-dire qu'elles aient peur, est supérieure à celle des souris normales. Ces tests indiquent que les souris Doogie ont une meilleure mémoire.

Apprennent-elles également mieux? L'apprentissage et la mémoire sont des phases différentes du même processus progressif et continu, dont les étapes sont difficiles à distinguer : sans mémoire, l'apprentissage est

impossible, et sans apprentissage il n'y a pas de mémoire. Nous avons utilisé une expérience comportementale classique, nommée apprentissage de l'extinction de la peur, pour déterminer l'influence des altérations génétiques



3. GRÂCE À UN GÈNE SUPPLÉMENTAIRE de la sous-unité NR2B du récepteur au NMDA, les capacités de mémoire et d'apprentissage d'une souris augmentent (à droite). Au contraire, lorsque l'on supprime le gène de la sous-unité NR1 du même récepteur, la souris n'apprend plus.

