

général, au-delà d'une journée d'intervalle, les souvenirs ne s'associaient pas.

Aussi excitantes que fussent ces découvertes comportementales, elles ne suffisaient pas à confirmer une prédiction essentielle découlant de notre hypothèse: l'idée que les souvenirs individuels formés à peu de temps d'intervalle soient stockés dans une même zone du cerveau, au sein de populations neuronales se recouvrant partiellement. Ce recouvrement physique devait lier les souvenirs, de sorte que le rappel de l'un entraîne celui de l'autre.

UN MICROSCOPE PORTABLE

Pour tester l'hypothèse d'allocation de lien, nous devions voir les souvenirs se former dans le cerveau. Par chance, la bonne technique d'imagerie est apparue au moment où nous en avions le plus besoin. Mark Schnitzer, de l'université Stanford, et son équipe venaient d'inventer un tout petit microscope, capable de visualiser l'activité de neurones dans le cerveau de souris libres de se déplacer. Cet instrument de 2 à 3 grammes est porté par l'animal comme un chapeau. Il nous a permis de pister les neurones activés par un souvenir donné et de savoir s'ils deviennent actifs quelques heures après, lorsqu'un autre souvenir est créé. En d'autres termes, nous avons pu tester notre prédiction. Nous avons ensuite créé notre propre version de cet outil, le «miniscope».

Pour visualiser uniquement les neurones activés par un souvenir, nous avons également utilisé la technique de l'indicateur de calcium codé génétiquement. Elle consiste à injecter à l'animal une molécule qui devient fluorescente en présence de calcium: or un neurone qui s'active absorbe le calcium présent dans le milieu extracellulaire... et devient donc visible au microscope.

Nous nous sommes concentrés sur la région CA1 de l'hippocampe en raison de son rôle dans l'apprentissage et la mémorisation des lieux. Les souris coiffées de leurs miniscopes ont été placées dans les cages imaginées par Denise Cai: nous voulions savoir si l'intervalle de temps entre les placements dans les deux cages déterminait quels neurones étaient activés.

Les résultats ont dépassé nos espérances. Lorsque les souris reliaient les souvenirs des deux cages, de nombreux neurones de l'aire CA1 qui étaient actifs quand les animaux se trouvaient dans la première cage l'étaient aussi quand ils exploraient la seconde. Si l'intervalle entre les deux visites était de cinq heures, les souris formaient deux souvenirs dans un ensemble similaire de neurones. Si on laissait s'écouler une semaine entre les visites des deux cages, les souvenirs activaient deux ensembles de neurones disjoints.

Ainsi, les souvenirs s'associent quand ils sont stockés dans des ensembles de neurones qui se recouvrent au moins en partie. Si vous réactivez un ensemble de neurones codant un premier

souvenir, celui-ci stimule l'autre ensemble et facilite le rappel du second souvenir.

Pour valider plus solidement encore ces résultats, Denise Cai s'est tournée vers la technique système TetTag (pour *tetracycline tag*). Elle permet de marquer les neurones activés dans le cerveau d'une souris quand elle forme le souvenir d'une cage où elle est placée, à l'aide d'une sonde fluorescente qui reste ensuite active pendant des semaines.

**Deux souvenirs formés
à peu de temps
d'intervalle ont plus
de chances d'être liés**

Grâce à des études *post mortem* sur les animaux, on compare alors les neurones activés récemment – repérables grâce à l'activité des gènes exprimés immédiatement après la formation du souvenir – avec ceux signalés par le marqueur à longue durée. Cette étape identifie non seulement les neurones activés par un événement (les cellules ne présentent qu'un seul marqueur fluorescent), mais aussi ceux qui sont sollicités par deux événements distincts (deux marqueurs différents sont visibles au microscope).

UNE COMPÉTITION ENTRE NEURONES

En utilisant le même montage expérimental que précédemment, Denise Cai et son équipe ont montré que pendant un court intervalle de cinq heures, le recouvrement entre les neurones qui codent chacun des deux souvenirs – les neurones avec deux marqueurs – était nettement plus important que si les deux souvenirs avaient mis en œuvre des assemblées aléatoires de neurones. En revanche, si les deux événements mémorisés étaient séparés d'une semaine, le recouvrement ne dépassait pas la répartition aléatoire.

L'équipe de Sheena Josselyn à Toronto a apporté des preuves supplémentaires de notre hypothèse d'allocation de lien, et notamment de nouveaux indices comportementaux. Cette fois, les souris étaient entraînées à distinguer deux ➤