

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

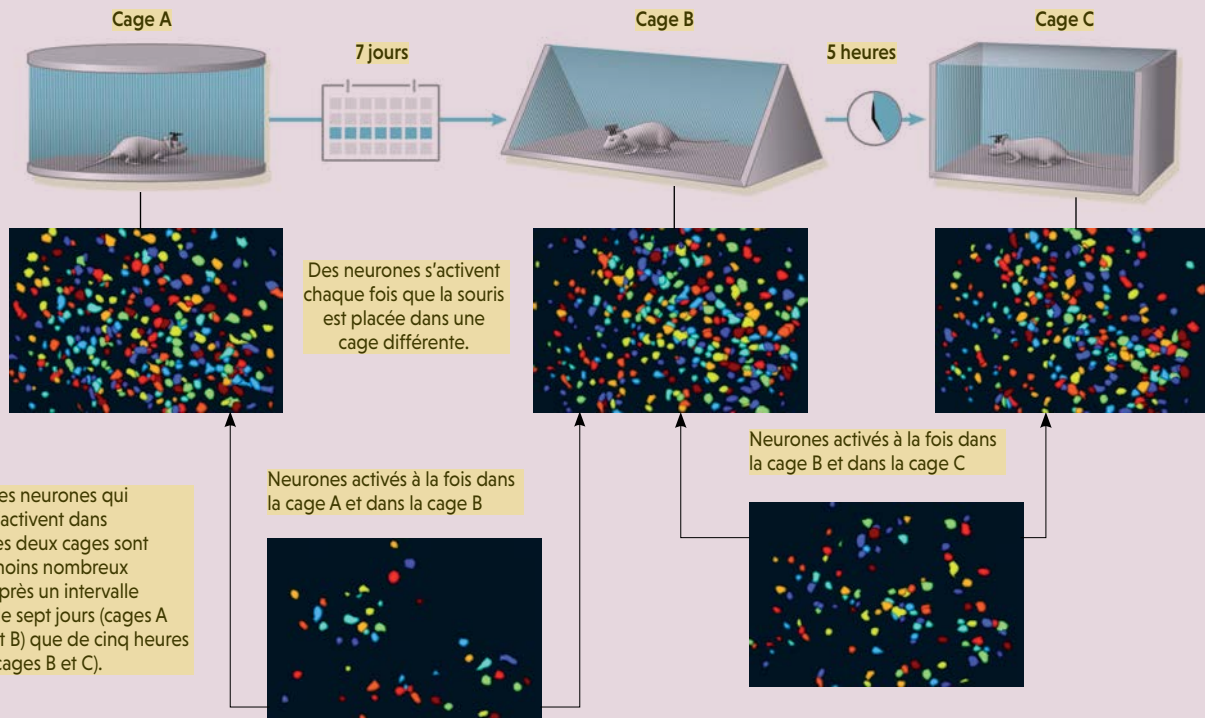
En utilisant le même montage expérimental que précédemment, Denise Cai et son équipe ont montré que pendant un court intervalle de cinq heures, le recouvrement entre les neurones qui codent chacun des deux souvenirs – les neurones avec deux marqueurs – était nettement plus important que si les deux souvenirs 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 ➤

UNE MADELEINE DANS LE CERVEAU

L'instant « proustien » – quand un souvenir en appelle un autre – a désormais une base cérébrale ! Des expériences ont révélé qu'une souris placée dans deux cages B et C associe les souvenirs de ces deux cages si elle les a explorées à moins de cinq heures d'intervalle. Elle n'associe pas, en revanche, les souvenirs des cages A et B, où elle a été placée à une semaine d'intervalle.

L'association mnésique des cages B et C se produit parce que les souvenirs de ces deux endroits se sont enregistrés dans des ensembles de neurones qui se recouvrent (contrairement aux souvenirs des cages A et B). Ainsi, quand la souris est replacée dans la cage B, le rappel de son souvenir réactive nombre de neurones communs aux souvenirs des deux cages, ce qui ravive le souvenir de la cage C.



sons différents, chacun associé à un choc électrique, les deux événements se produisant à divers intervalles de temps. Lorsque six heures ou moins séparaient les deux événements, les souris s'immobilisaient ensuite plus longtemps à l'écoute du second son (sans électrochoc), signe que le souvenir associé à ce son était renforcé. Au-delà de six heures, ce n'était plus le cas.

Ils ont par ailleurs montré que lors du premier stimulus, dans l'amygdale latérale (une région importante dans le conditionnement de la peur), la proportion de neurones où la protéine CREB était activée augmentait pendant les six premières heures, puis redevenait normale dans les heures suivantes. En jouant sur l'excitabilité de ces neurones par optogénétique, les chercheurs ont alors révélé qu'un phénomène de compétition détermine à quels neurones sont assignés deux souvenirs. Ils en proposent le scénario suivant: le premier événement augmente l'excitabilité d'un groupe de neurones – le lieu de son souvenir – en y augmentant l'activité de CREB. Si le deuxième événement a lieu dans les

six heures suivantes, l'activité accrue de CREB favorise l'ancrage du second souvenir dans un groupe de neurones qui recouvre partiellement le premier, ce qui renforce le second souvenir. Au-delà de six heures, en revanche, tous les neurones ont *a priori* la même chance d'accueillir le deuxième souvenir, sans recouvrement.

SOUVENIRS SÉPARÉS AU LASER

Récemment, Kaoru Inokuchi et ses collègues de l'université de Toyama, au Japon, ont poussé cette analyse un cran plus loin. Grâce à l'optogénétique, ils ont inactivé, par de la lumière laser, le groupe de neurones partagés par deux souvenirs émotionnels distincts sans altérer l'activité des autres neurones, dont ceux propres et uniques à chacun des deux souvenirs. Ce faisant, ils abolissaient le lien entre les deux souvenirs, sans perturber le rappel de chaque souvenir individuel. Cette expérience élégante a fourni la preuve que les neurones partagés par deux souvenirs constituent le liant de notre mémoire.