



Pour réagir aux articles : courrier@pouirlascience.fr
ou directement sur les pages correspondantes du site www.pouirlascience.fr

✓ QUELLE ACTION POUR LES AXIONS ?

Dans l'article *Matière noire : un univers caché* (*Pour la Science* n° 399, janvier 2011, <http://bit.ly/pls399-matiere-noire>), les auteurs ne parlent pas des axions, pourtant populaires chez les théoriciens. Que sont ces particules et existe-t-il des expériences qui tentent de les mettre en évidence ?

Martin Schwartz

→ RÉPONSE DE ÉRIC ARMENGAUD

Les axions sont des particules hypothétiques qui ont été introduites pour résoudre un problème de la théorie des interactions fortes (la chromodynamique quantique). L'existence des axions permet d'éviter une trop grande violation de la symétrie dite CP. Ces particules auraient une nature assez particulière (« pseudoscalaire »).

Si leur masse était comprise entre le microélectronvolt et le milliélectronvolt, elles constitueraient un bon candidat pour expliquer la matière noire, avec des propriétés différentes des WIMP.

L'interaction d'un axion avec le champ magnétique est supposée créer un signal électrique mesurable. On utilise cette propriété pour tenter de les détecter avec de puissants aimants. L'expérience CAST, au CERN, essaye par exemple de détecter des axions qui seraient créés au sein du Soleil. L'expérience ADM X recherche, elle, des axions qui constitueraient la matière noire de la Voie lactée. Elle a déjà permis de poser des contraintes sur la masse des axions pour les modèles de type matière noire.

✓ COULÉES DE LAVE MULTICOLORES

La coulée multicolore présentée dans l'article *Les tunnels de lave* (*Pour la Science* n° 399, janvier 2011, <http://bit.ly/pls399-lave>) est vraiment surprenante. Qu'est-ce qui explique, ces tons orange, verts et jaunes bien marqués ? Par ailleurs, la minéralogie des tunnels de lave diffère-t-elle de celle d'autres grottes plus classiques ?

Anaïs Joseph

→ RÉPONSE DE MICHEL DETAY

Les mini-coulées rencontrées dans le tunnel de lave de Ferlir, dans le Sud-Ouest de l'Islande, présentent des couleurs uniques. Il ne s'agit pas d'un vernis superficiel, mais bien de couleurs

dans la masse. Cette formation provient probablement du rétrodrainage, en plusieurs phases, d'une poche de lave vers le tube principal. Des mini-coulées successives de lave à des états différents de maturation et d'oxydation, et des vitesses de refroidissement différentes sont sans doute à l'origine de cet étagement surprenant.

Ces tunnels de lave faisant partie du patrimoine national islandais, je n'ai évidemment pas pu prélever d'échantillons qui auraient permis de réaliser des analyses minéralogiques de ces coulées. Cependant, en accord avec Jean-Marie Bardintzeff, je pense que leurs couleurs proviennent principalement de l'état d'oxydation du fer, oscillant du rouge-orangé-jaune à l'état de fer ferrique (oxydé), jusqu'au vert pour le fer ferreux (réduit).

Par ailleurs, la minéralogie des tunnels de lave n'a rien à voir avec celle des grottes « classiques ». Les tunnels de lave sont formés dans la roche volcanique, alors que les grottes habituelles sont formées dans des roches calcaires (sédimentaires). Ces deux environnements géologiques n'ont en commun que la présence de spéléothèmes (de lave ou de calcaire respectivement).

✓ LE CRI DES TORTUES

D'après l'article *La communication acoustique des crocodiles* (*Pour la Science* n° 399, janvier 2011, <http://bit.ly/pls399-crocodiles>), les cris émis avant l'éclosion par les jeunes crocodiles informent la mère sur l'état de développement des embryons. Chez les tortues, qui sont aussi des reptiles et enfouissent aussi leurs œufs, les jeunes émettent-ils également des signaux acoustiques avant l'éclosion ?

Nicolas Cennac

→ RÉPONSE DE NICOLAS MATHEVON

À ma connaissance, les jeunes tortues n'émettent pas de signaux acoustiques avant l'éclosion, ni après, d'ailleurs. Chez ces animaux, les soins parentaux semblent absents et aucune communication parent-jeune n'a encore été décrite. De plus, les tortues et crocodiles sont assez éloignés phylogénétiquement. Comme expliqué dans l'article, les crocodiles sont beaucoup plus proches des oiseaux, avec lesquels ils constituent le groupe des Archosaures.

Chez certaines espèces de tortues, cependant, l'émission de signaux acoustiques a été



La communication acoustique permet aux jeunes crocodiles de synchroniser l'éclosion.

décrite lors de l'accouplement. Mais on ne sait pas vraiment si ces vocalisations ont valeur de signal, c'est-à-dire si elles portent de l'information. Les tortues n'utilisent donc pas beaucoup l'acoustique pour communiquer.

✓ HABITER LE PERSONNAGE

Merci pour l'article *Les signaux non verbaux de la communication* (*Pour la Science* n° 399, janvier 2011, <http://bit.ly/pls399-communication>). Certains hommes politiques essaient de corriger leur gestuelle pour renvoyer une meilleure image. Peut-on réellement modifier par l'entraînement les signaux non verbaux que l'on transmet ? Ces changements sont-ils pérennes à long terme ?

Thomas Bauder

→ RÉPONSE DE Y.-A. DE MONTJOYE ET A. PENTLAND

Les signaux honnêtes étant profondément ancrés dans notre système nerveux, il est très difficile de tromper son interlocuteur en les déguisant. Il est cependant possible de les influencer, notamment par un principe d'interprétation théâtrale connu sous le nom de « La Méthode ». Ce principe, développé dans les années 1940 à New York par l'Actor Studio, consiste à faire corps avec un personnage et à expérimenter sa personnalité. En effet, « devenir » un patron pointilleux ou un ami compatissant modifie notre communication non verbale et *in fine* la façon dont un interlocuteur nous perçoit.

Cependant, aller au-delà du jeu d'acteur et vivre son personnage influence notre façon de penser, d'agir et de prendre des décisions. Façonner sa communication non verbale n'est donc pas pratiquer la langue de bois, mais reflète un vrai travail de réinvention de soi.

ABONNEZ-VOUS À **POUR LA SCIENCE**

L'univers des sciences tel que vous ne l'avez jamais vu

✓ **Votre 1^{er} avantage**

En vous abonnant au magazine *Pour la Science*, vous accédez tous les mois à une information scientifique de qualité : les chercheurs vous expliquent l'actualité de la recherche internationale.

✓ **Votre 2^e avantage : 25% de remise**
soit 1 an d'abonnement (12 n^{os})
56€ seulement !

✓ **Votre 3^e avantage**

Pendant 1 an vous recevez votre magazine chez vous.
Vous pouvez aussi consulter à tout moment
la version numérique sur
www.pourlascience.fr



BULLETIN D'ABONNEMENT

à retourner accompagné de votre règlement à : Service Abonnements • Pour la Science • 8, rue Férou • 75278 Paris cedex 06

POUR LA SCIENCE

☐ **Oui, je m'abonne au magazine *Pour la Science* pendant 1 an**

soit 12 numéros et leur version numérique **au prix de 56€** (au lieu de 74,70€, prix de vente au numéro).

Offre valable uniquement en France métropolitaine. Participation aux frais de port pour l'étranger à ajouter au prix de l'abonnement : France d'Outre-Mer et Europe 12€ - autres pays 25€.

☐ **Je préfère m'abonner uniquement à la version numérique du magazine *Pour la Science* pendant 1 an**

soit 12 numéros consultables et téléchargeables sur www.pourlascience.fr **au prix de 48€** (au lieu de 74,70€, prix de vente au numéro).

J'indique mes coordonnées :

Nom : _____

Prénom : _____

Adresse : _____

Code postal : _____ Ville : _____

Pays : _____ Tél.* : _____

*facultatif

☐ Je souhaite recevoir la newsletter *Pour la Science* à l'adresse e-mail suivante :

_____@_____

☐ J'accepte de recevoir également les informations des partenaires de *Pour la Science*.

Je choisis mon mode de règlement :

☐ Par chèque à l'ordre de *Pour la Science*

☐ Par carte bancaire

Numéro de carte _____

Date d'expiration _____ Signature obligatoire

Clé _____
(les 3 chiffres au dos de votre CB)

Les neurones sous l'emprise de la lumière

Karl Deisseroth

En associant l'optique et la génétique, les neuroscientifiques contrôlent l'activité électrique de neurones dans le cerveau d'animaux vivants ; ils espèrent pouvoir extrapoler leurs résultats à l'homme pour en apprendre davantage sur les maladies mentales.

Le psychiatre – que je suis – est tous les jours confronté aux limites de son domaine d'activité. En effet, malgré les efforts louables des cliniciens et des chercheurs, on ignore encore certains fondements neurobiologiques des maladies psychiatriques. Cela ralentit le développement de médicaments, alors que ces maladies représentent un problème majeur de santé publique. On a vraiment besoin de nouvelles réponses en psychiatrie. Mais pour les trouver, il faut mettre au point des techniques innovantes d'exploration du cerveau ; je vais vous présenter celle que j'ai développée, l'optogénétique.

En neurosciences, il est difficile de mettre au point des techniques appropriées, car le cerveau des mammifères est complexe. Il contient des dizaines de milliards de neurones interconnectés, ayant de nombreuses caractéristiques distinctes et des modes de décharge électrique différents. Les neuro-

nes communiquent *via* de brefs signaux électriques, de l'ordre de la milliseconde, et une grande variété de messagers biochimiques. À cause de cette complexité, les neuroscientifiques ignorent ce que fait réellement le cerveau, c'est-à-dire comment des décharges électriques spécifiques dans des cellules cérébrales particulières donnent naissance à la pensée, aux souvenirs, à la perception et aux sentiments.

De fait, on ignore aussi comment les défaillances du cerveau produisent des troubles mentaux distincts, telles la dépression et la schizophrénie. Les hypothèses actuelles concernant ces maladies – à savoir des déséquilibres chimiques et des modifications des quantités de neurotransmetteurs – ne rendent pas compte du circuit neuronal électrique. Les traitements sont alors peu spécifiques, bien qu'ils soient souvent utiles.

Ainsi, en 1979, le lauréat du prix Nobel de médecine Francis Crick a suggéré que



© Shutterstock/Design. Pour la Science

L'ESSENTIEL

- ✓ Certains micro-organismes utilisent des canaux ioniques activés par la lumière : les opsines.
- ✓ En insérant des gènes d'opsine dans les cellules cérébrales de souris, les neuroscientifiques peuvent contrôler l'activité électrique de neurones spécifiques avec des flashes de lumière.
- ✓ Cette technique n'en est qu'à ses débuts, mais elle améliore déjà nos connaissances sur le fonctionnement du cerveau.
- ✓ Les scientifiques espèrent comprendre les dysfonctionnements électriques et biochimiques associés aux maladies mentales, telles la schizophrénie et la dépression.

le défi majeur des neurosciences serait de contrôler un certain type de cellules cérébrales, tout en ne touchant pas aux cellules adjacentes. Les stimulations électriques avec des électrodes, même intracérébrales, ne permettent pas de relever ce défi : les électrodes sont un outil grossier qui stimule toutes les cellules situées sur le site d'insertion, sans distinguer les différents types cellulaires. En outre, leurs signaux ne peuvent pas inhiber l'activité électrique des neurones – les empêcher d'émettre un signal électrique (on dit qu'ils déchargent) – avec précision.

Plus tard, Crick émit l'hypothèse selon laquelle la lumière pourrait servir d'outil de contrôle, car on sait la délivrer sous forme d'impulsions précises, dans toute une gamme de couleurs. Mais à cette époque, personne ne savait comment faire réagir des cellules à la lumière.

Au même moment, dans un domaine de la biologie éloigné de l'étude du cerveau

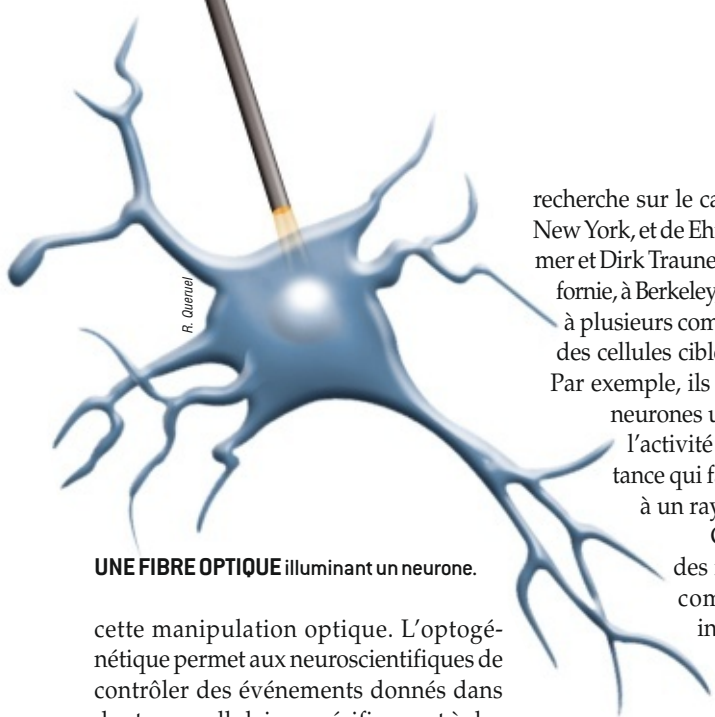
des mammifères, des chercheurs travaillaient sur des micro-organismes particuliers qui utilisent la lumière pour survivre. Depuis 40 ans, les biologistes savent que ces micro-organismes produisent des protéines qui modifient le flux des charges électriques à travers la membrane cellulaire sous l'effet de la lumière.

Ces protéines, produites par un ensemble de gènes nommés opsines, permettent aux micro-organismes d'extraire de l'énergie dans la lumière de leur environnement. En 1971, Walther Stoeckenius et Dieter Oesterhelt, de l'Université de Californie à San Francisco, ont montré que l'une de ces protéines, la bactériorhodopsine, agit comme une pompe à ions, qui peut être brièvement activée par des photons de lumière verte. Puis on découvrit d'autres membres de cette famille de protéines : les halorhodopsines en 1977 et les canaux rhodopsines en 2002 (voir l'encadré page 27).

Avec le recul, il s'avère que la solution de Crick – contrôler les neurones avec la lumière – existait déjà avant même qu'il la formule. Pourtant, il fallut attendre plus de 30 ans pour que ces concepts soient réunis et donnent naissance à une nouvelle technique : l'optogénétique.

Une technique nouvelle en psychiatrie

L'optogénétique associe les outils de la génétique et de l'optique pour contrôler des événements dans toutes les cellules des tissus vivants (et pas seulement celles du système nerveux). Elle comprend la découverte de gènes qui font réagir les cellules à la lumière et leur insertion dans ces cellules ; elle inclut aussi des techniques permettant de délivrer de la lumière dans le cerveau, de cibler les effets de cette lumière sur les gènes et les cellules voulues, et d'évaluer les conséquences de



UNE FIBRE OPTIQUE illuminant un neurone.

cette manipulation optique. L'optogénétique permet aux neuroscientifiques de contrôler des événements donnés dans des types cellulaires spécifiques et à des instants bien précis.

Dans une cellule, un événement n'a de sens que dans son contexte, au milieu d'autres événements, dans le tissu, l'organisme ou même l'environnement. Par exemple, un décalage même faible, de quelques millisecondes, du moment où un neurone commence à décharger pourrait inverser l'effet de son signal sur le reste du système nerveux. Aujourd'hui, des milliers de scientifiques utilisent l'optogénétique pour savoir comment la décharge de neurones spécifiques déclenche une réaction physiologique et un comportement complexes chez des vers, des mouches, des poissons, des oiseaux, des souris, des rats et des singes. Et ces travaux apportent déjà quelques informations intéressantes sur la dépression, les troubles du sommeil, la maladie de Parkinson et la schizophrénie.

La lumière et la vie

En biologie, l'emploi de la lumière pour l'étude des systèmes vivants est ancien. Les chercheurs utilisent depuis longtemps une méthode fondée sur la lumière, nommée CALI, pour détruire ou inhiber des protéines. On a aussi exploité des lasers pour détruire des cellules spécifiques chez le ver *Caenorhabditis elegans*. Inversement, Richard Fork, des Laboratoires Bell dans les années 1970, et Rafael Yuste, de l'Université de Columbia, ont décrit en 2002 comment stimuler des neurones avec des lasers. Mais ces techniques avaient un inconvénient : elles détruisaient les membranes cellulaires.

Depuis une dizaine d'années, les équipes de Gero Miesenböck, du Centre de

recherche sur le cancer Sloan-Kettering, à New York, et de Ehud Isacoff, Richard Kramer et Dirk Trauner, à l'Université de Californie, à Berkeley, ont utilisé des systèmes à plusieurs composants pour moduler des cellules ciblées avec de la lumière. Par exemple, ils ont introduit dans des neurones une protéine qui régule l'activité électrique et une substance qui fait réagir cette protéine à un rayonnement ultraviolet.

Cependant, ces méthodes reposant sur plusieurs composants – que l'on introduit dans les cellules cibles – présentent des difficultés pratiques et n'ont pas eu beaucoup d'applications chez les mammifères. Il était nécessaire de trouver une stratégie n'utilisant qu'un seul composant. C'est là qu'interviennent les protéines de micro-organismes activées par la lumière : les bactériorhodopsines, les halorhodopsines et les canaux rhodopsines.

En 2000, des chercheurs de l'Institut Kasuka de recherche sur l'ADN, au Japon, publièrent en ligne des milliers de nouvelles séquences génétiques provenant de l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*. En examinant ces séquences, Peter Hegemann, de l'Université Regensburg à Berlin, qui avait prédit que *Chlamydomonas* devait avoir un canal ionique activé par la lumière, trouva

participer aux réponses activées par la lumière de *Chlamydomonas*. Cependant, la découverte de ces canaux rhodopsines n'a pas fait immédiatement progresser les neurosciences, pas plus que ne l'avaient fait les découvertes des bactériorhodopsines et des halorhodopsines lors des décennies précédentes.

Un canal opsine dans les neurones

Beaucoup de scientifiques avaient pourtant envisagé d'insérer des gènes d'opsines bactériens ou provenant d'algues dans des neurones pour contrôler ces derniers avec de la lumière. Mais ils avaient vite abandonné l'idée : il y avait peu de chances que les cellules animales fabriquent ces protéines microbiennes avec efficacité et sûreté, et il était presque certain que les protéines, même si elles étaient synthétisées, seraient inefficaces. En outre, pour absorber les photons, ces protéines nécessitent un cofacteur, un composé apparenté à la vitamine A et nommé tout-trans rétinol. Le risque de perdre du temps et de l'argent était important...

Néanmoins, pour mon équipe de bio-ingénierie à l'Université Stanford, améliorer notre compréhension de la psychiatrie clinique justifiait un tel risque. Lors de mon internat en psychiatrie, j'avais été le témoin des faiblesses et des effets secondaires

L'OPTOGÉNÉTIQUE PERMET AUX NEUROSCIENTIFIQUES de contrôler des événements donnés dans des types cellulaires spécifiques et à des instants bien précis.

deux longues séquences semblables à celles qui codent la bactériorhodopsine. Il en obtint des copies auprès de l'Institut Kasuka et, en 2002, avec Georg Nagel, de l'Université de Francfort, ils décrivent leur découverte : l'une de ces séquences code un canal membranaire, formé d'une seule protéine et sensible à la lumière bleue. Quand ce canal est éclairé par de la lumière bleue, il régule le flux des cations (des ions chargés positivement). La protéine codée fut nommée canal rhodopsine 1 (ou ChR1).

En 2003, P. Hegemann et G. Nagel étudièrent l'autre séquence et nommèrent la protéine codée canal rhodopsine 2 (ou ChR2). Au même moment, John Spudich, de l'École de médecine de l'Université du Texas à Houston, montra que ces gènes

néfastes des traitements des maladies mentales, telle la thérapie par électrochocs.

Ainsi, en 2004, nous avons introduit le canal rhodopsine 2 dans des neurones de mammifères en culture grâce aux techniques classiques de transfection ; en d'autres termes, nous avons épissé, c'est-à-dire associé, le gène codant le canal rhodopsine 2 avec un type spécifique « d'interrupteur » neuronal, ou promoteur, et nous avons introduit ce matériel dans l'ADN d'un vecteur, tel un virus inactivé, qui l'a transporté dans les neurones. Le promoteur fait en sorte que seuls les neurones sélectionnés (par exemple ceux qui sécrètent le neurotransmetteur glutamate) expriment, ou fabriquent, l'opsine correspondant au gène introduit.

LES OPSINES, DES PROTÉINES SENSIBLES À LA LUMIÈRE

Certains types d'algues et d'autres micro-organismes synthétisent des protéines, nommées opsines, qui réagissent à la lumière visible. Lorsqu'elles sont exposées à la lumière, ces protéines – qui sont en fait des canaux membranaires – régulent le flux des ions chargés à travers les membranes, ce qui permet aux cellules d'extraire de l'énergie de

leur environnement. Les opsines n'ont pas toutes la même sensibilité à la lumière ni le même comportement. Les gènes d'opsines qui produisent ces protéines sont le fondement de l'optogénétique, technique que les neuroscientifiques utilisent aujourd'hui pour contrôler l'activité électrique de neurones ciblés.

Micro-organisme



Chlamydomonas reinhardtii est une algue unicellulaire mobile, dotée d'une paire de flagelles qui lui permettent de se déplacer dans l'eau douce.



Volvox carteri est une algue proche de *Chlamydomonas*, mais elle est constituée de centaines de cellules vivant ensemble et formant une colonie.



Natronomonas pharaonis est une archéobactérie qui ne peut vivre que dans des eaux saturées en sel.

Habitat



Les sols et les étendues d'eau douce partout dans le monde.

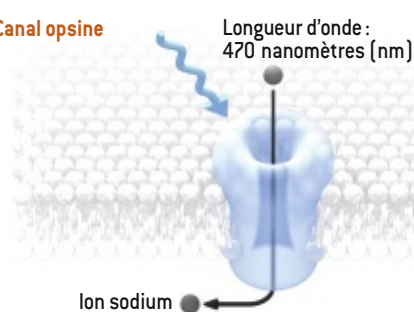


Les étangs, les lacs et les étendues d'eaux stagnantes.

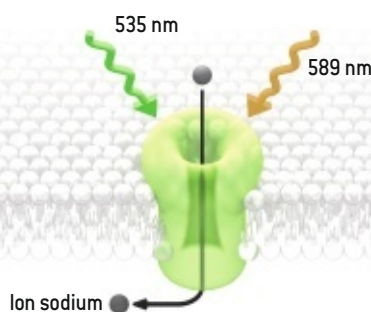


Les lacs salés en Égypte et au Kenya.

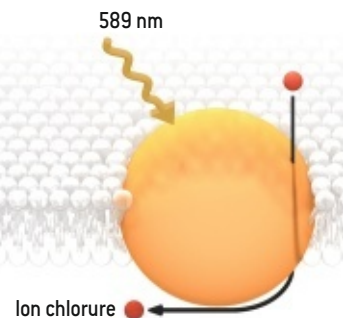
Canal opsine



Le canal rhodopsine ChR2 permet le passage des ions sodium en réaction à la lumière bleue.

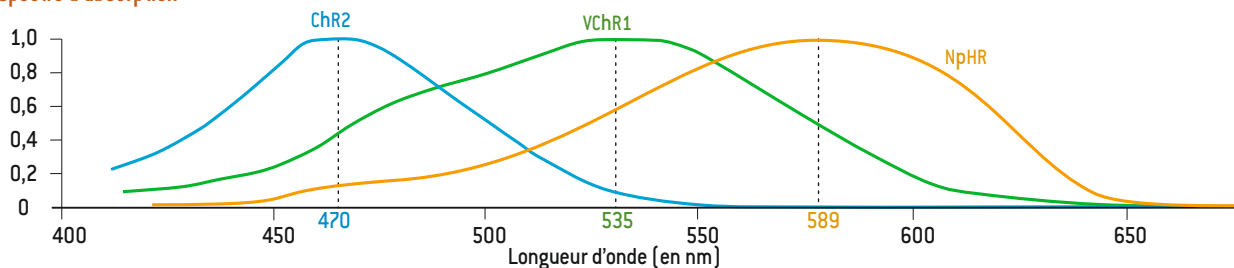


Le canal rhodopsine VChR1 réagit à la lumière verte et jaune.



La halorhodopsine NpHR régule le flux des ions chlorure en réaction à la lumière jaune.

Spectre d'absorption



T. Arzenberger, Redux Pictures, E. Stiffler, New York Times/Redux Pictures, Ulrich Doering Alamy; Optogenetic interrogation of neural circuits: technology for probing mammalian brain structures, F. Zhang et al., Nature Protocols, février 2010 (canaux et spectres d'absorption), illustrations Bryan Christie

Cette expérience a été un succès. En utilisant des impulsions de lumière visible, nous avons contrôlé précisément, à la milliseconde près, la décharge de potentiels d'action – les impulsions électriques qui permettent à un neurone de transmettre de l'information à un autre – de groupes de neurones. Les potentiels d'action sont créés par des échanges d'ions de part et d'autre de la membrane des neurones, *via* différents canaux et pompes. Les opsines (des canaux ioniques), ainsi produites par les neurones, interviennent dans la production des potentiels d'action. En août 2005, mon équipe publia un premier rapport montrant qu'en introduisant un seul gène d'opsine microbien dans des neurones de mammifères, nous pouvions rendre ces cellules sensibles à la lumière.

Les canaux rhodopsines, mais aussi la bactériorhodopsine et les halorhodopsines, sont tous capables d'exciter ou d'inhiber des neurones (en modulant leur activité électrique), avec efficacité et sûreté, en réaction à la lumière. Et ce, car tous les tissus de mammifères contiennent naturellement de grandes quantités de tout-trans rétinol, le cofacteur chimique nécessaire pour que les photons activent les opsines microbiennes. L'ajout d'un seul gène d'opsine aux neurones ciblés suffit.

En 2006, nous avons nommé cette approche l'optogénétique. Depuis lors,

de nombreux laboratoires dans le monde l'emploient, en utilisant les différentes versions de ces gènes que nous avons synthétisées pour travailler de façon optimale sur les cellules de mammifères. À ce jour, environ 700 laboratoires utilisent ces gènes.

L'ingénierie des opsines

Le nombre d'outils en optogénétique, ainsi que leurs applications, se sont vite multipliés. Les scientifiques recherchent de nouvelles opsines dans la nature; grâce à l'ingénierie moléculaire, ils modifient aussi les opsines connues pour qu'elles soient utilisables de différentes façons avec davantage d'organismes (*voir l'encadré page 30*).

Par exemple, en 2008, nous avons trouvé dans le génome d'une autre espèce d'algue, *Volvox carteri*, un troisième canal rhodopsine (VChR1), qui réagit à la lumière jaune et non à la bleue. En utilisant ce canal avec les autres canaux rhodopsines, nous pouvons contrôler simultanément différentes populations de cellules, la lumière jaune modifiant certaines d'entre elles et la lumière bleue d'autres. Et nous avons découvert que le canal rhodopsine le plus efficace est en fait un hybride de VChR1 et de ChR1. Nos

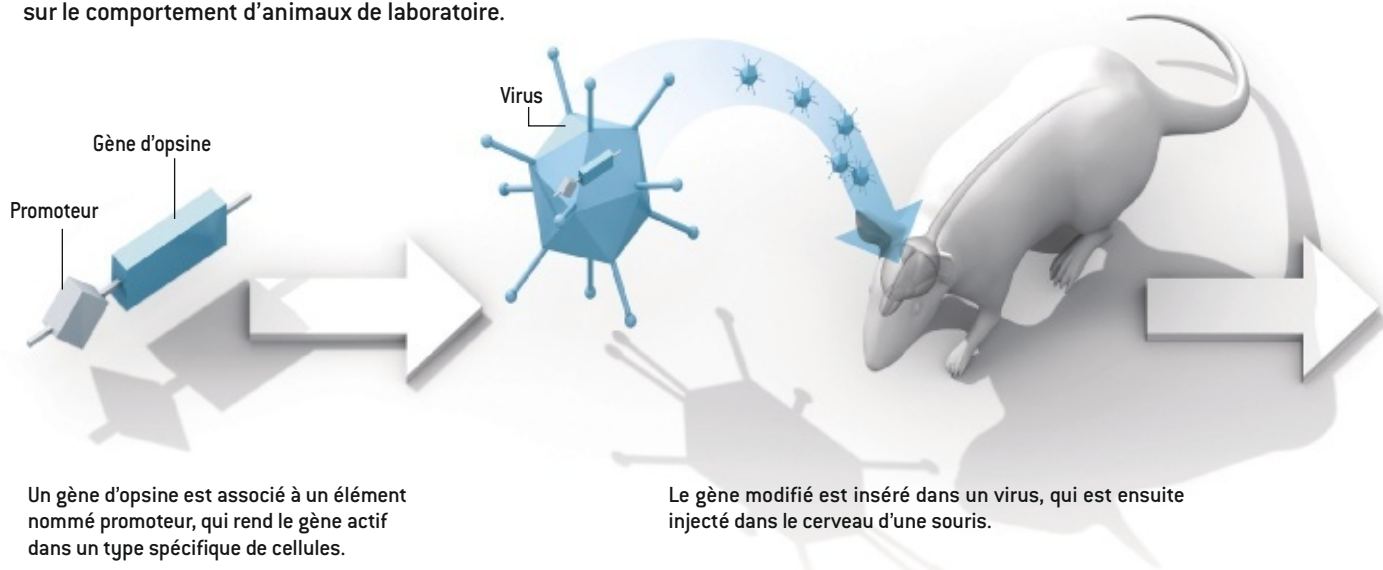
autres opsines modifiées sont des mutants ultrarapides et ultralents du canal rhodopsine ChR2: ils contrôlent de façon très sensible l'émission et la durée des potentiels d'action. Les premiers déclenchent des potentiels d'action plus de 200 fois par seconde, tandis que les seconds placent les cellules dans des états d'excitation stables (ayant une fréquence de décharge plus faible). Les opsines les plus récentes réagissent maintenant à la lumière rouge, proche de l'infrarouge; cette lumière est mieux focalisée, rentre plus facilement dans les tissus et est bien tolérée.

L'ingénierie moléculaire a aussi permis d'étendre le contrôle optogénétique au-delà de l'activité électrique des cellules, jusqu'aux réactions biochimiques. Une grande partie des médicaments que l'on connaît agit sur une famille de protéines membranaires nommées récepteurs couplés à la protéine G. Ces protéines détectent les signaux chimiques extracellulaires, telle l'adrénaline, et réagissent en modifiant les signaux chimiques intracellulaires, tels les ions calcium qui participent à l'activité électrique des cellules.

En ajoutant le domaine sensible à la lumière d'une molécule de rhodopsine à des récepteurs couplés à la protéine G, Raag Airan et d'autres chercheurs de mon laboratoire ont développé un ensemble

FAIRE RÉAGIR LES NEURONES À LA LUMIÈRE

Pour les études utilisant l'optogénétique, les neuroscientifiques insèrent des gènes d'opsines dans des cellules cérébrales grâce à des virus modifiés. Ils peuvent alors déclencher une activité électrique neuronale à la demande, avec des flashes de lumière, et observer leurs effets sur le comportement d'animaux de laboratoire.



de récepteurs, nommés optoXR, qui réagissent rapidement à la lumière verte. Quand des virus insèrent le matériel génétique de ces récepteurs dans le cerveau de rats de laboratoire, les optoXR nous permettent de contrôler des événements biochimiques chez ces rongeurs tandis qu'ils se déplacent dans une cage (pour ce faire, on implante une fibre optique dans leur cerveau, voir l'encadré ci-dessous). Désormais, un contrôle optique rapide et spécifique des voies biochimiques est donc possible, à la fois *in vitro* et *in vivo*.

Beaucoup de gènes d'opsines naturelles découverts dans différents génomes de micro-organismes ne sont pas correctement exprimés par les cellules de mammifères. Mais nous avons développé différentes stratégies pour améliorer leur production et leur expression. Par exemple, nous avons associé les gènes d'opsine à des fragments d'ADN qui servent de « code postal » : ils font en sorte que les gènes d'opsines soient transportés là où ils sont utiles dans les cellules de mammifères afin qu'ils soient bien traduits en protéines fonctionnelles.

Qui plus est, nous avons créé en 2006 et en 2007 des outils fondés sur les fibres optiques, qui envoient de la lumière dans n'importe quelle région du cerveau – superficielle ou profonde – chez des mammifères se déplaçant librement. Et

pour voir en même temps les signaux électriques dynamiques obtenus par contrôle optogénétique, nous avons développé des instruments qui associent des fibres optiques et des électrodes.

Bientôt, nous espérons stimuler optiquement des neurones tout en enregistrant leur activité électrique, car nous pouvons organiser ces deux techniques sans qu'elles interfèrent. Par exemple, nous savons observer l'activité électrique des circuits neuronaux impliqués dans le contrôle moteur et modifiés avec des opsines microbiennes.

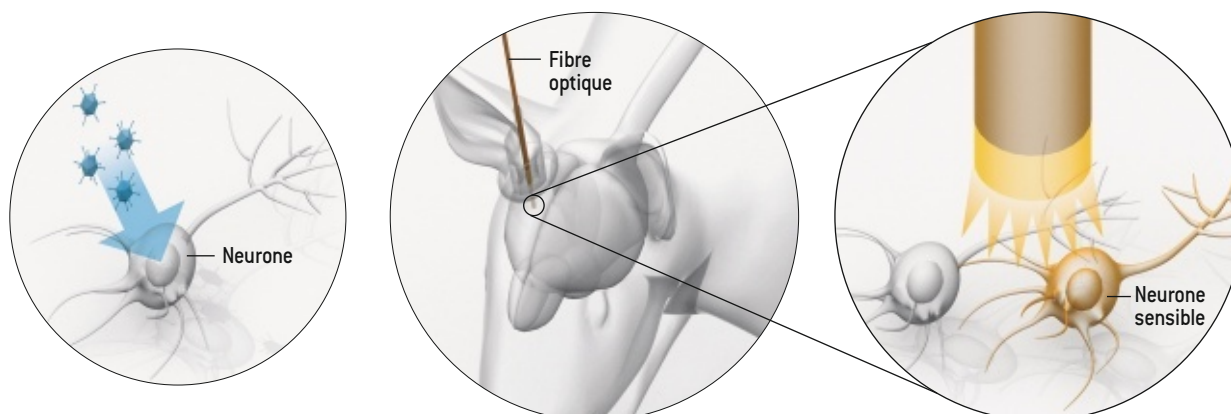
Contrôler l'esprit pour mieux le soigner

Plus les contrôles optogénétiques et les activités électriques des circuits neuronaux deviendront complexes, plus nous irons vers une forme d'ingénierie « inverse » de la machinerie neuronale : nous serons capables de déduire les fonctions des circuits neuronaux à partir de la façon dont ils réagissent aux signaux optogénétiques. Cette ingénierie inverse de circuits neuronaux sains nous permettra peut-être de déterminer quelles propriétés et quelles activités diffèrent dans les cas de maladies psychiatriques et neurologiques. Cela nous aidera à trouver comment rétablir ces circuits.

L'AUTEUR



KARL DEISSEROTH, professeur de psychiatrie et de bio-ingénierie, dirige le Laboratoire de bio-ingénierie de l'Université Stanford, aux États-Unis.



Le virus infecte de nombreuses cellules nerveuses, mais à cause du promoteur, seul un type de neurones fabrique l'opsine.

Des fibres optiques insérées dans le cerveau de l'animal y envoient de la lumière et y contrôlent l'activité électrique des neurones sensibles, ceux qui expriment l'opsine.

Bryan Christie

L'importance de l'optogénétique en tant qu'outil de recherche, notamment quand elle est associée à d'autres techniques, ne cesse de croître. Ces dernières années, les neurosciences ont fait de nombreux progrès grâce à une technique d'observation du cerveau nommée l'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf).

Cette méthode fournit des cartes détaillées de l'activité neuronale en réponse à divers stimulus. Pourtant, l'IRMf montre seulement les modifications des concentrations en oxygène sanguin dans différentes régions cérébrales (plus un groupe de neurones est activé, plus il consomme d'oxygène). Ces variations ne sont qu'une approximation de l'activité neuronale. Alors les signaux de l'IRMf reflètent-ils vraiment des augmentations locales de l'activité neuronale ?

La réponse est oui. En mai 2010, nous avons utilisé l'optogénétique et l'IRMf pour vérifier que l'activation de neurones moteurs engendre bien les signaux détectés par l'IRMf. De plus, l'association de ces deux techniques permet de cartographier avec précision des circuits neu-

ronaux. L'optogénétique permet ainsi de valider et de préciser de nombreuses données scientifiques en neurosciences et en psychiatrie.

« Éveiller » le neurone

De fait, l'emploi de l'optogénétique a déjà des applications chez l'homme. Chez l'animal, nous l'avons utilisée sur un type de neurones (ceux sécrétant le neurotransmetteur hypocretine) dans une région du cerveau impliquée dans un trouble du sommeil, la narcolepsie (les malades sont saisis d'un besoin irrésistible de dormir et « tombent » de sommeil au sens propre). Nous avons montré que des modes de décharge électrique spécifiques de ces neurones déclenchent le réveil. Si nous pouvions cliniquement engendrer cette activité électrique particulière, nous disposerions d'un traitement de la narcolepsie. Et nous savons désormais que des types d'activité spécifiques dans un petit groupe de cellules sont capables de produire un comportement complexe.

Nous avons également déterminé comment les neurones qui fabriquent de

la dopamine donnent naissance au plaisir. Nous avons déclenché par optogénétique différentes décharges électriques dans des groupes bien définis de neurones dopaminergiques chez des souris se déplaçant librement. Et nous avons identifié les motifs de stimulus qui provoquent la sensation de récompense : en l'absence de tout autre signal ou de nourriture (une forme de récompense), les souris séjournaient davantage dans les endroits où leurs neurones dopaminergiques avaient été activés par la lumière. Ainsi, nous pouvons mettre en évidence l'activité électrique cellulaire impliquée dans le processus de récompense normal, mais aussi celle liée aux pathologies du système de la récompense, telles la dépression et la toxicomanie.

En outre, nous avons amélioré notre compréhension de la maladie de Parkinson, qui correspond à une perturbation du traitement de l'information dans certains circuits cérébraux du système moteur. Depuis les années 1990, certains patients souffrant de la maladie de Parkinson ont été traités par une technique nommée stimulation cérébrale profonde :

NATURE ET FONCTION DES OPSINES

Les scientifiques augmentent les possibilités de l'optogénétique en modifiant les gènes des opsines connues et en recherchant ceux d'autres protéines sensibles à la lumière. De nouvelles opsines, dotées des caractéristiques désirées, uti-

lisées seules ou en association, permettent aux chercheurs de comprendre certains mystères biologiques grâce à des expériences autrefois impossibles à réaliser. Voici une liste de certaines opsines, ainsi que leurs applications.

Opsine	Source	Longueur d'onde excitatrice	Application
Mutants ultrarapides du canal rhodopsine ChR2	Algue <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	470 nanomètres (activation maximale)	Utilisées pour obtenir une activation et une inhibition rapides des neurones avec une précision de l'ordre de la milliseconde, jusqu'à 200 fois par seconde.
Mutants ultralents du canal rhodopsine ChR2	Algue <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	470 nm pour l'ouverture du canal 546 nm pour la fermeture de certains mutants	Permettent d'activer les cellules avec seulement quelques flashes de lumière. En raison de leur sensibilité à la lumière, elles sont utiles aux expériences où la lumière doit pénétrer à travers d'importants volumes de tissus (comme dans le cerveau des mammifères).
Canal rhodopsine VChR1	Algue <i>Volvox carteri</i>	535 et 589 nm	Permet d'activer les neurones. Comme VChR1 réagit à la lumière jaune et ChR2 à la lumière bleue, ces deux opsines peuvent être utilisées ensemble pour contrôler simultanément et indépendamment l'activité électrique de différentes populations de neurones.
OptoXR	Synthétique, créée à partir de la rhodopsine et des récepteurs couplés à la protéine G	500 nm	Permet de contrôler rapidement et spécifiquement les voies biochimiques (et non les signaux électriques) de cellules. Ces canaux peuvent être utilisés chez des animaux de laboratoire se déplaçant librement.

un dispositif implanté, semblable à un pacemaker, applique des stimulus électriques oscillants, soigneusement minutés, dans certaines régions cérébrales profondes, tel le noyau sous-thalamique.

Cependant, les promesses de cette technique pour la maladie de Parkinson (et pour d'autres maladies) sont limitées, car les électrodes stimulent les cellules voisines, de façon non sélective, et la connaissance des stimulus à appliquer est incomplète. Nous avons récemment utilisé l'optogénétique pour étudier des modèles animaux de la maladie de Parkinson. Nous avons découvert, par exemple, que la stimulation cérébrale profonde serait plus efficace quand elle cible non pas les cellules, mais les connexions entre neurones – modifiant ainsi les interactions des différentes régions du cerveau. Et nous avons cartographié deux voies dans les circuits moteurs du cerveau ; l'une de ces voies ralentit les mouvements, l'autre les accélère et pourrait contrecarrer certains symptômes parkinsoniens (notamment le ralentissement moteur).

L'activité neuronale des schizophrènes

Qui plus est, nous avons appris comment forcer un type de cellules, les neurones néocorticaux à parvalbumine, à moduler les ondes gamma de l'activité cérébrale (un type d'ondes que l'on enregistre sur les électroencéphalogrammes). Les scientifiques savent que les patients souffrant de schizophrénie ont des neurones à parvalbumine altérés et que les oscillations gamma sont anormales dans la schizophrénie et l'autisme – mais on ignore pourquoi. En utilisant l'optogénétique, nous avons montré que les cellules à parvalbumine augmentent les ondes gamma et que celles-ci, à leur tour, renforcent le flux d'information dans les circuits corticaux.

Or les patients souffrant de schizophrénie traitent mal l'information ; par exemple, un événement banal peut être surinterprété (ce qui donne peut-être lieu à la paranoïa et aux hallucinations). Ces patients souffrent aussi d'une défaillance d'un mécanisme qui permet à chacun de distinguer les voix entendues prononcées par autrui et sa « petite voix intérieure » (les sujets entendent des voix).

Les personnes souffrant des différentes formes d'autisme, quant à elles,

L'optogénétique est-elle éthique ?

Aujourd'hui, l'optogénétique rejoint les techniques de modulation du cerveau, tels les médicaments psychoactifs et les interventions chirurgicales, qui soulèvent des questions éthiques et philosophiques. Cependant, l'optogénétique est plus sûre et moins chargée de considérations éthiques que ces stratégies plus anciennes. La puissance et la spécificité croissantes de l'optogénétique sont associées à sa complexité technique : il serait presque impossible d'utiliser l'optogénétique sur un patient non volontaire ou réticent.

Toutefois, de nouveaux problèmes, plus subtils, naissent de la précision de l'optogénétique. Tous les aspects de la personnalité, les émotions et les sou-

venirs proviennent d'événements électriques et biochimiques ayant lieu dans des groupes particuliers de neurones, selon des schémas temporels précis. Le contrôle de ces composants clés de l'esprit soulèverait quelques questions philosophiques épineuses, allant du fait de savoir quand il est approprié ou justifiable de faire de telles modifications jusqu'à des questions plus abstraites sur la nature même de la personnalité et de la volonté et sur le fait que l'on puisse les modifier.

Les interventions neurologiques fondées sur la chirurgie, des médicaments ou des électrodes sont si grossières que ces questions philosophiques sont plus théoriques que pratiques et n'ont été abordées que

partiellement. Le psychiatre est directement concerné par ce type de questions, car il sait que les traitements à sa disposition sont capables d'influer sur la construction psychique.

Mais les temps changent, comme l'illustre l'incroyable rapidité des progrès en optogénétique. La précision temporelle et cellulaire des interventions humaines dans le cerveau doit faire l'objet d'une réflexion continue et attentive qui implique les citoyens. Reste à expliquer soigneusement aux profanes ce que représentent les expériences d'optogénétique chez l'animal et comment elles peuvent nous aider à mieux comprendre le fonctionnement du cerveau et à traiter les maladies mentales.

traitent également mal l'information : elles ne saisissent pas le sens général des propos qu'on leur tient, car elles se focalisent sur des détails d'objets, de personnalités, de conversations, etc. Ces anomalies du traitement de l'information peuvent perturber la communication et le comportement. Ainsi, une meilleure compréhension de la signification des ondes gamma nous permettrait de mieux aborder ces maladies complexes.

En conséquence, l'ingénierie cellulaire et cette nouvelle technique, l'optogénétique, nous donnent des informations sur les maladies psychiatriques. On peut désormais relier certaines fonctions complexes du cerveau et des comportements aux propriétés électriques de neurones et de circuits neuronaux. Tout cela change notre compréhension de la façon dont fonctionnent les tissus électriquement excitable, qu'ils soient sains ou malades. Et ce, grâce à d'étranges protéines bactériennes qui réagissent à la lumière. L'histoire de l'optogénétique souligne qu'il est important de protéger les niches environnementales rares – où l'on découvre souvent de nouvelles espèces et de nouveaux outils. Qui aurait cru que l'étude d'une molécule extraite d'un micro-organisme donnerait naissance à une nouvelle méthode d'exploration du cerveau ? ■

✓ BIBLIOGRAPHIE

F. Zhang *et al.*, **Structures**, *Nature Protocols*, vol. 5, pp. 439-456, février 2010.

R. D. Airan *et al.*, **Temporally precise *in vivo* control of intracellular signaling**, *Nature*, vol. 458, pp. 1025-1029, avril 2009.

V. Gradinaru *et al.*, **Optical deconstruction of parkinsonian neural circuitry**, *Science*, vol. 324, pp. 354-359, avril 2009.

G. Miesenböck, **De la lumière dans le cerveau**, *Pour la Science*, n° 376, février 2009.

E. S. Boyden *et al.*, **Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity**, *Nature Neuroscience*, vol. 8, pp. 1263-1268, septembre 2005.

Des insectes à la photonique

Serge Berthier

Les ailes des insectes présentent des structures qui contrôlent la propagation de la lumière.

Les physiciens s'en inspirent pour élaborer de nouveaux matériaux.

Contrôler la propagation de la lumière à l'échelle nanométrique : tel est l'objectif de la photonique, une branche récente (le terme n'a que 20 ans) et prometteuse de l'optique qui a par exemple conduit aux diodes électroluminescentes (LED) et aux fibres optiques structurées. L'élément de base de la photonique est le cristal photonique, une architecture périodique semblable à celle des cristaux minéraux, mais de période beaucoup plus grande, de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres. De telles structures permettent de manipuler les photons, comme un circuit électrique le ferait avec des électrons. Leur réalisation à grande échelle reste cependant problématique, aussi notre équipe s'est-elle lancée, depuis plusieurs années, dans l'étude des cristaux photoniques naturels, très communs dans le monde animal et à l'origine des plus belles couleurs du vivant : ailes et élytres des insectes, écailles des poissons et reptiles, plumes des oiseaux, nacre...

Ces matériaux naturels peuvent inspirer le physicien de diverses façons. Dans un premier temps, il peut tenter de repro-

L'ESSENTIEL

✓ Ailes de papillons, élytres de coléoptères, plumes d'oiseaux, écailles de poissons : nombre de matériaux naturels dévient ou polarisent la lumière.

✓ Cette faculté est souvent accompagnée d'autres propriétés telles l'hydrophobie, l'absorption lumineuse ou la rigidité.

✓ Ces matériaux ont deux caractéristiques communes : ils sont structurés à plusieurs échelles et présentent un certain désordre.

✓ Les chercheurs s'en inspirent pour créer de nouveaux matériaux antireflets ou autonettoyants.

© Shutterstock/Oleg_Z

duire telle quelle une structure existante, ou même l'utiliser directement. Nous verrons que certains verres hydrophobes sont ainsi directement inspirés des propriétés des ailes d'un papillon, et que les ailes d'un autre papillon servent de détecteur de vapeur (voir la figure 1). Le physicien peut aussi, après modélisation, modifier la structure initiale pour amplifier un phénomène. Enfin, de l'étude des matériaux naturels, il peut déduire des règles quasi universelles qui régissent le développement des structures naturelles.

La règle première est la multifonctionnalité. Économe en moyens – elle utilise peu d'éléments chimiques –, la nature ne développe pas de dispositif strictement monofonctionnel : elle fait beaucoup avec peu. Comment ? En construisant des matériaux multi-échelle, c'est-à-dire présentant différentes structures selon l'échelle considérée. De cette organisation multi-échelle résulte un désordre structural qui non seulement assure le lien entre les différentes fonctions du matériau étudié (aile de papillon ou autre), mais optimise ces fonctions.

Multifonctionnalité, multi-échelle, désordre et optimisation en moyenne, telles