

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

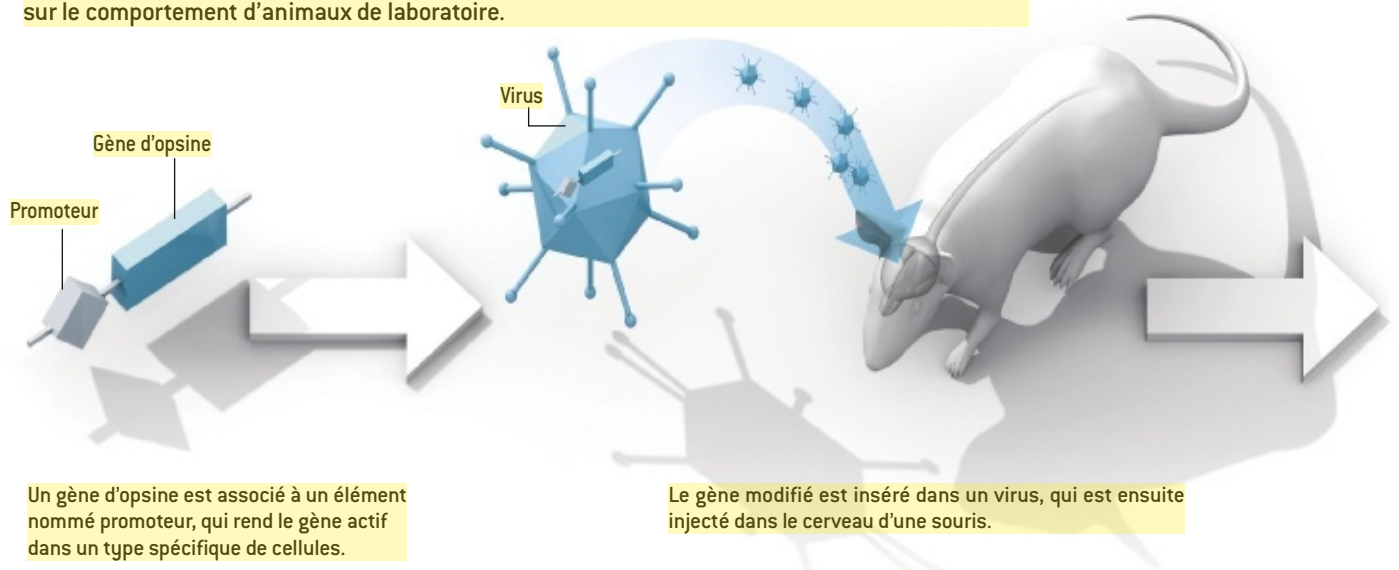
autres opsines modifiées sont des mutants ultrarapides et ultralents du canal rhodopsine ChR2: ils contrôlent de façon très sensible l'émission et la durée des potentiels d'action. Les premiers déclenchent des potentiels d'action plus de 200 fois par seconde, tandis que les seconds placent les cellules 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.

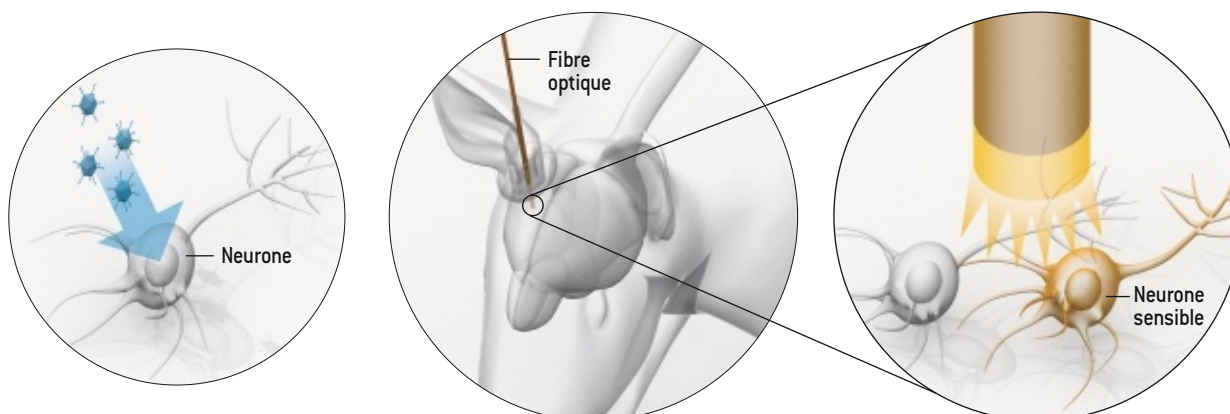
## Contrôler l'esprit pour mieux le soigner

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